

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS



**ESTRUCTURA Y MEZCLA GENETICA DE LAS
POBLACIONES MESTIZAS DEL NORESTE DE
MEXICO MEDIANTE EL USO DE MARCADORES
MOLECULARES AUTOSOMICOS,
MITOCONDRIALES Y DEL CROMOSOMA "Y"**

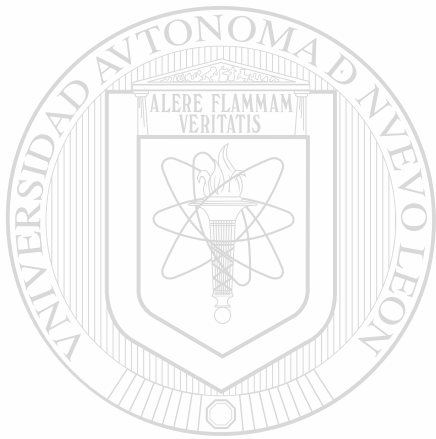
POR

Biólogo M. en C. RICARDO MARTIN CERDA FLORES

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS
(ESPECIALIDAD: BIOLOGIA CELULAR Y GENETICA)**

JUNIO, 2001



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ESTRUCTURA Y MEZCLA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES
MESTIZAS DEL NORESTE DE MÉXICO MEDIANTE EL USO DE
MARCADORES MOLECULARES AUTOSOMÍCOS,
MITOCONDRIALES Y DEL CROMOSOMA "Y"

R. M. CERDA - FLORES

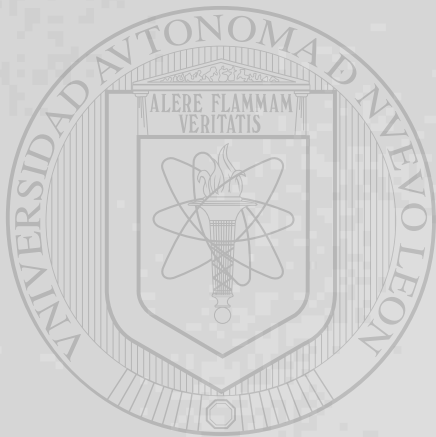
TD
QH442
.C47
2001
c.1

ANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



1080124475



UANL

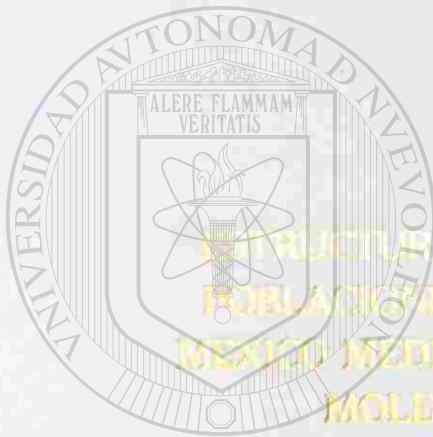
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



INTRODUCCIÓN Y MEZCLA GENÉTICA DE LAS
POBLACIONES MESTIZAS DEL NORESTE DE
MÉXICO MEDIANTE EL USO DE MARCADORES
MOLECULARES AUTOSÓMICOS,
MITOCONDRIALES Y DEL CROMOSOMA crY^{19}

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
POR

Biólogo M. en C. RICARDO MARTÍN CERDA FLORES

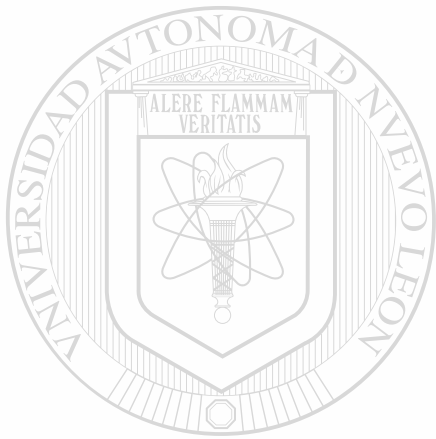
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(ESPECIALIDAD: BIOLOGÍA CELULAR Y GENÉTICA)

JUNIO, 2001



TD
QH44Z
.C47
2001



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTRUCTURA Y MEZCLA GENETICA
DE LAS POBLACIONES MESTIZAS DEL NORESTE DE MEXICO
MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES
AUTOSOMICOS, MITOCONDRIALES y DEL CROMOSOMA Y

Por

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

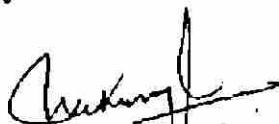
Biólogo, M. en C. RICARDO MARTIN CERDA FLORES ®

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(Especialidad: Biología Celular y Genética)

Junio, 2001

**ESTRUCTURA Y MEZCLA GENETICA
DE LAS POBLACIONES MESTIZAS DEL NORESTE DE MEXICO
MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES
AUTOSOMICOS, MITOCONDRIALES Y DEL CROMOSOMA Y**

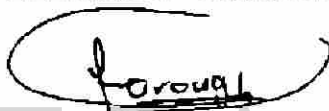
Aprobación de la Tesis:



DR. RANAJIT CHAKRABORTY
Director Externo



DR. MARIO RODOLFO MORALES VALLARTA
Director Interno



DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH
Secretario



DR. MOHAMMAD H. BADDI

Vocal

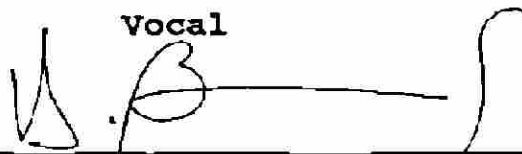
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



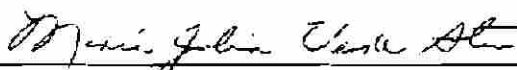
DR. LI JIN

Vocal



DR. HUGO ALBERTO BARRERA SALDAÑA

Vocal



DRA. MARIA JULIA VERDE STAR
Subdirectora de Estudios de Postgrado

El presente trabajo de tesis se realizó en:

Instituto Mexicano del Seguro Social

**Centro de Investigación Biomédica del Noreste (CIBIN),
Departamento de Genética de Poblaciones, Monterrey, MEXICO**

Instituto Mexicano del Seguro Social

**Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO),
División de Genética, Guadalajara, MEXICO**

Laboratorio del Dr. José Fernando Rivas-Solis

Human Genetics Center

**School of Public Health, The University of Texas Houston,
Health Science Center, USA**

Laboratorio del Dr. Ranajit Chakraborty y Dr. Li Jin

FBI (Federal Bureau of Investigation)

Laboratory Division, Washington, DC 20535, USA

Laboratorio del Dr. Bruce Budowle

Universidad Autónoma de Nuevo León

**Facultad de Medicina, Unidad de Laboratorios de Ingeniería
y Expresión Genética, Departamento de Bioquímica,
Monterrey, MEXICO**

**Laboratorio del Dr. Hugo A. Barrera-Saldaña con la
asistencia de la M. en C. M^o del Carmen Villalobos-Torres.**

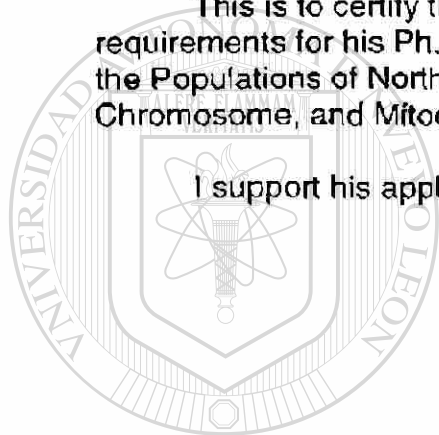


14 May 2001

To Whom It May Concern:

This is to certify that Ricardo M. Cerda-Flores has completed the research requirements for his Ph.D. thesis, entitled, Genetic Admixture and Structure of the Populations of Northeastern Mexico, using Molecular Autosomal, Y-Chromosome, and Mitochondrial Markers.

I support his application for the Ph.D. degree.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Sincerely,

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



Ranajit Chakraborty, Ph.D.
Allen King Professor

8 May 2001

To Whom It May Concern:

I write this letter to confirm that Ricardo M. Cerda-Flores has completed the requirements for his Ph.D. thesis, entitled, Genetic Admixture and Structure of the Populations of Northeastern Mexico, using Molecular Autosomal, Y-Chromosome, and Mitochondrial Markers. He has worked methodically, learned and applied many procedures and done excellent analysis in my laboratory during the past five years. He has my fullest support and congratulations for his applications for the Ph.D. degree.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

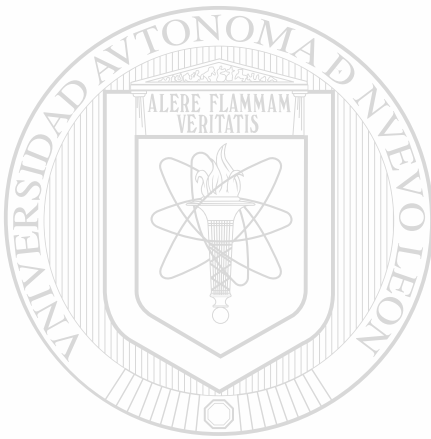
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Sincerely,



Li Jin, Ph.D.
Associate Professor

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**"SUEÑA TODO LO QUE TE ATREVAS A SOÑAR,
VE A DONDE QUIERAS IR,
SE TODO LO QUE QUIERAS SER...
¡VIVE!**

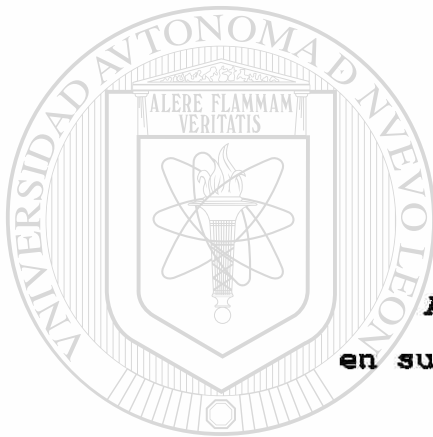
JUAN SALVADOR GAVIOTA

DEDICATORIA:

A la memoria de mi madre y mi padre

A mi familia

A todos mis amigos y amigas



**A todo aquel soñador que tenga
en su corazón a un Juan Salvador Gaviota**

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ACKNOWLEDGMENTS

I wish to express my gratitude to my academic advisor and chairman of my supervisory committee, Dr. Ranajit Chakraborty, for his guidance, support, and training through my graduate career. I also wish to thank my supervisory committee, Drs. Mario Rodolfo Morales-Vallarta, Rahim Foroughbakhch, Mohammad H. Baddi, Hugo Alberto Barrera-Saldaña, and Li Jin.

Thanks is also due to the faculty and students at the Center of Demographic and Population genetics and medical genetics for helping to make stay in Houston pleasant, productive, and enlightening. I am particularly indebted to Drs. William J. Schull, Sara Ann Barton, Ruth Ottman, and Salvador Said Fernandez for their encouragement and assistance.

Special thanks to Dr. Bruce Budowle, Dr. Yixi Zhong, Dr. Fernando Rivas, Dr. Bing Su, and Dr. Ranjan Deka.

It should be noted that some of the work presented in this dissertation has been previously submitted, or is in preparation as the following manuscripts:

1. RM Cerda-Flores, MC Villalobos-Torres, HA Barrera-Saldaña, LM Cortes-Prieto, LO Barajas, F Rivas, A Carracedo, Y Zhong, SA Barton, R Chakraborty. Genetic admixture in three Mexican Mestizo populations based on D1S80 and HLA-DQA1 loci. *Am J Hum Biol.*
2. RM Cerda-Flores, L Jin, SA Barton, R Chakraborty. Absence of European and African mtDNA lineages in Mexican Mestizos. *Am J Hum Genet.*
3. RM Cerda-Flores, B Budowle, L Jin, SA Barton, R Deka, R Chakraborty. Maximum loglikelihood estimates of admixture in Northeastern México using 13 STRs. *Human Biology.*
4. RM Cerda-Flores, L Jin, SA Barton, B Su, R Chakraborty. Distribution of Y-chromosome data in Northeastern México. *European J Hum Genet.*

AGRADECIMIENTOS

Dentro de mi carrera científica iniciada en Agosto de 1981 en el Centro de Investigación Biomédica del Noreste, IMSS, es importante agradecer a todas las personas e instituciones nacionales y extranjeras que colaboraron en el presente estudio y cuya participación fue fundamental para la culminación en parte de este macroproyecto en los que he invertido 11 años de mi vida (1990-2001) de los cuales se han obtenido 32 de un total de 44 publicaciones.

Los primeros seis años fueron parte en la preparación como investigador visitante en la Universidad de Texas en Houston y en la Universidad de Columbia en Nueva York. Los cinco restantes se consolidaron en viajar constantemente de Monterrey a diferentes centros de investigación en México y los Estados Unidos para realizar el trabajo de campo, experimental y estadístico de este proyecto.

Los apoyos económicos fueron proporcionados por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y los apoyos económicos producto de los Grants de los Drs. William J. Schull, Ranajit Chakraborty, Sara Ann Barton y Ruth Ottman.

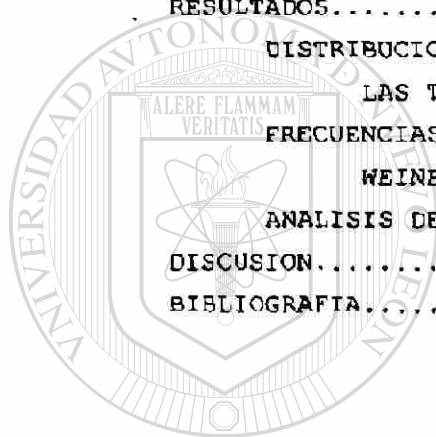
Agradezco infinitamente el apoyo y visión de mis mentores y amigos que siempre creyeron en mí y a los cuales me une un afecto muy especial: Dr. William J Schull, Dr. Ranajit Chakraborty, Sara Ann Barton, Dr. Li Jin, Dra. Ruth Ottman, Dr. Hugo Alberto Barrera Saldaña, Dr. Salvador Saíd Fernandez, Dr. Raúl Garza Chapa, Dr. Carlos H. Leal Garza, Dr. Mario Rodolfo Morales Vallarta, Dr. Mohammad H. Baddi, Dr. Rajim Foroughbakhch, Dr. Roberto Mercado Hernández, Dr. Fernando Rivas, y Dra. María Julia Verde Star.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
LISTA DE TABLAS.....	XIV
LISTA DE FIGURAS.....	XVI
NOMENCLATURA Y DEFINICIONES.....	XVII
RESUMEN GENERAL.....	XIX
CAPITULO 1	
1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS Y DEMOGRAFICOS.....	1
1.2 MESTIZAJE.....	2
1.3 ESTRUCTURA GENETICA DEL NORESTE DE MEXICO.....	3
1.4 MEZCLA GENETICA.....	5
1.5 POLIMORFISMO GENETICO Y MARCADOR GENETICO.....	7
1.5.1 POLIMORFISMOS DEL DNA.....	8
1.5.2 TIPIFICACION DE MARCADORES DE DNA MEDIANTE LA PCR.....	13
1.5.3 POLIMORFISMO DEL DNA MITOCONDRIAL.....	14
1.5.4 EL MARCADOR GENETICO D1S80.....	19
1.5.5 EL MARCADOR GENETICO HLA-DQA1.....	21
1.5.6 LOS MARCADORES MICROSATELITES O STRs.....	22
1.5.7 POLIMORFISMOS DEL DNA DEL CROMOSOMA Y.....	25
1.6 IMPORTANCIA.....	29
1.7 ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACION.....	30
1.8 HIPOTESIS.....	32
1.9 OBJETIVOS.....	32
1.10 DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO.....	33
1.11 METODOLOGIA.....	35
BIBLIOGRAFIA.....	36

**CAPITULO 2: MEZCLA GENICA EN TRES POBLACIONES MESTIZAS DE MEXICO:
MARCADORES D1S80 Y HLA-DQA1.**

RESUMEN.....	49
INTRODUCCION.....	50
OBJETIVOS.....	52
MATERIAL Y METODOS.....	53
DESCRIPCION DE LA MUESTRA.....	53
PREPARACION DE LA MUESTRA.....	53
TIPIFICACION DE D1S80.....	54
TIPIFICACION DEL HLA-DQA1.....	54
METODOS ESTADISTICOS.....	54
RESULTADOS.....	56
DISTRIBUCIONES DE LAS FRECUENCIAS ALELICAS Y COMPARACION ENTRE LAS TRES POBLACIONES.....	56
FRECUENCIAS GENOTIPICAS CON LAS EXPECTATIVAS DE HARDY- WEINBERG.....	60
ANALISIS DE MEZCLA GENICA.....	62
DISCUSION.....	64
BIBLIOGRAFIA.....	67



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 3: AUSENCIA DEL LINAGE EUROPEO Y AFRICANO EN MESTIZOS MEXICANOS A TRAVES DEL ESTUDIO DEL DNA MITOCONDRIAL.

INTRODUCCION.....	73
MATERIAL Y METODOS.....	76
RESULTADOS Y DISCUSION.....	78
BIBLIOGRAFIA.....	80

CAPITULO 4: ESTIMACION DE MEZCLA GENICA EN POBLACION DEL NORESTE DE MEXICO UTILIZANDO 13 STRs

RESUMEN.....	84
INTRODUCCION.....	85
OBJETIVOS.....	85
MATERIAL Y METODOS.....	90
EXTRACCION DE DNA.....	90
AMPLIFICACION DE LOS STRs.....	90
TIPIFICACION DE LOS STRs.....	91
ANALISIS ESTADISTICO.....	91
RESULTADOS.....	95
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	108
APENDICE A.....	112
APENDICE B.....	114
BIBLIOGRAFIA.....	124

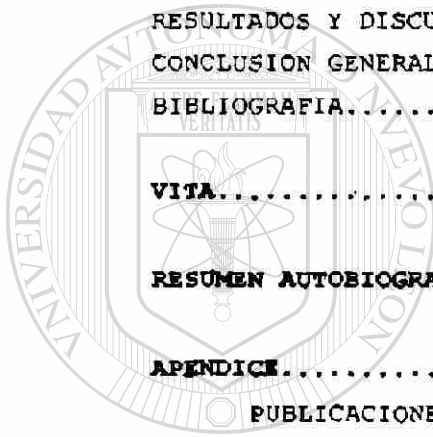
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**CAPITULO 5: DISTRIBUCION DE LOS MARCADORES MOLECULARES DEL CROMOSOMA Y
EN EL NORESTE DE MEXICO.**

RESUMEN.....	129
INTRODUCCION.....	130
OBJETIVOS.....	132
MATERIAL Y METODOS.....	134
DESCRIPCION DE LA MUESTRA.....	134
PREPARACION DE LA MUESTRA.....	134
MARCADORES STR DEL CROMOSOMA Y.....	135
ANALISIS DE YAP y DYS199.....	136
ANALISIS ESTADISTICO.....	136
RESULTADOS Y DISCUSION.....	137
CONCLUSION GENERAL.....	139
BIBLIOGRAFIA.....	144
VITA.....	148
RESUMEN AUTOBIOGRAFICO.....	149
APENDICE.....	150
PUBLICACIONES GENERADAS CON LA PRESENTE TESIS	



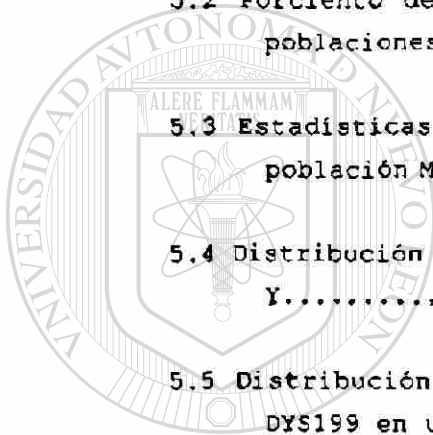
U A N L

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE TABLAS

TABLA	PAGINA
1.1 Haplotipos del DNAm ^t humano.....	18
1.2 Determinación del haplotipo DNAm ^t Amerindio de una persona Mestiza Mexicana mediante el corrimiento por separado de las sondas (sentido, antisentido) A, B, C y D en un gel de agarosa.....	19
1.3 Método de tipificación de 13 STRs con el Analizador Genético ABI PRISM 310.....	23
1.4 Sistema GenePrint TM PowerPlex TM 1 + PowerPlex TM 2 = 13 STRs (CODIS).....	24
1.5 Características de los tres STRs del cromosoma Y.....	27
2.1 Frecuencias alélicas del alelo D1S80 (%) en tres poblaciones Mestizas Mexicanas y tres poblaciones antecesoras.....	57
2.2 Frecuencias alélicas del HLA-DQA1 en tres poblaciones Mestizas Mexicanas y en tres poblaciones antecesoras.....	59
<hr/>	
2.3 Pruebas de HWE para los loci D1S80 y HLA-DQA1.....	61
2.4 Contribución de las poblaciones antecesoras Española, Amerindia y Africana (%) para las tres poblaciones Mestizas Mexicanas....	63
3.1 Distribución de las frecuencias de los cuatro principales haplogrupos de origen Amerindio (A, B, C y D) clasificados de acuerdo al lugar de nacimiento de la abuela materna.....	77
4.1 Frecuencias alélicas (%) y frecuencia alélica mínima (%) para 13 loci en la población Mestiza Mexicana del Noreste.....	97
4.2 Desviaciones significativas observadas y valores de P para las expectativas de Hardy-Weinberg y equilibrio de ligamiento....	98

4.3 Heterocigosidad específica para cada locus, probabilidad de exclusión y poder de discriminación para 13 loci STRs CODIS en la población Mestiza Mexicana del Noreste.....	100
4.4 Contribución de las poblaciones antecesoras Española, Amerindia y Africana para las poblaciones Mestizas del Noreste de México e Hispanas de los Estados Unidos.....	107
5.1 Frecuencias alélicas de tres loci STR del cromosoma Y en una población Mestiza Mexicana del Noreste y tres poblaciones antecesoras (de Knijff y Cois. 1997).....	140
5.2 Porcentaje de contribución de las poblaciones antecesoras en las poblaciones Mestizas Mexicanas del Noreste.....	141
5.3 Estadísticas resumidas de tres loci STRs del cromosoma Y en una población Mestiza Mexicana.....	141
5.4 Distribución haplotípica de los tres marcadores STRs del cromosoma Y.....	142
5.5 Distribución de la zona de nacimiento de los abuelos paternos y DYS199 en una población Mestiza Mexicana.....	143



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

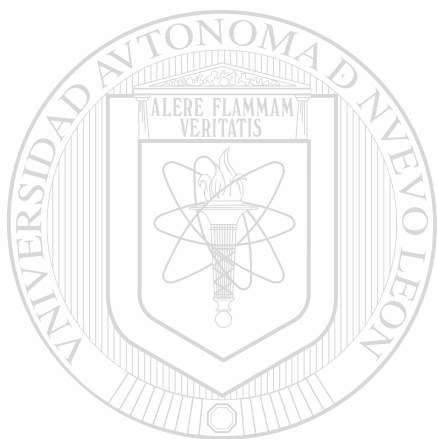
LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PAGINA
1.1 Amplificación de polimorfismos de DNA por PCR. Esquema de los polimorfismos que pueden ser amplificados por PCR: a) RFLPs, b) VNTRs y c) STRs. Los iniciadores en todos los casos tienen que flanquear las regiones pólimerficas.....	12
2.1 Localización de los Estados de Nuevo León, Jalisco y Distrito Federal en México donde las poblaciones Mestizas fueron tipificadas para los marcadores D1S80 y HLA-DQA1.....	51
3.1 Localización del Estado de Nuevo León y las zonas de México donde la abuela materna nació.....	75
4.1 Localización del Estado de Nuevo León y del Noreste de México..	88
4.2 Distribuciones observadas y esperadas del número de loci con identidad genotípica y el número de alelos compartidos en pares comparado con los perfiles de DNA de los 143 individuos (110,153 comparaciones). Las distribuciones esperadas están bajo la suposición de independencia mutua de los alelos dentro y a través de los loci.....	102
4.3 Comparación de la base de datos de los Mestizos del Noreste de México con la de los Hispanos de los Estados Unidos.....	105
5.1 Localización del lugar de nacimiento de los abuelos paternos de la población Mestiza Mexicana.....	133

NOMENCLATURA Y DEFINICIONES

S	Sumatoria
Theta	Una medida del grado de subdivisión poblacional; equivalente a F_{ST} .
Regla 2p	Un ajuste conservativo para una simple banda VNTR que puede ser heterocigotica; 2p ₁ remplaza a p ₁ ²
DNAm _t DNA mitocondrial	
A	Nucleótido de Adenina
U	Nucleótido de Uracilo
C	Nucleótido de Citosina
G	Nucleótido de Guanina
T	Nucleótido de Timina
D1S80	VNTR D1S80
HLADQ1	Gen DQ1 del complejo HLA
AmpFLP	Polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados
HVR	Región hipervariable
RFLP	Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción
STR	Repeticiones cortas en tandem
PAGE	Electroforesis en geles de poliacrilamida
VNTR	Repeticiones en tandem de número variable
°C	Grados Centígrados
CODIS	Indice de identificación nacional del DNA por el FBI.
Col.s.	Colaboradores
<hr/>	
DNA	Acido Desoxirribonucleico
dNTP's	Desosinucleósidos trifosfatados
EDTA	Acido etilendiaminotetracético
F_{ST} .	Medición de Wright para una subdivisión poblacional; es similar a θ cuando el apareamiento dentro de las subpoblaciones es aleatoria.
M	Concentración Molar
min	Minutos
mM	Concentración milimolar
μ M	Concentración micromolar
μ g	Microgramos
μ l	Microlitros
ml	Mililitro
ng	Nanogramo

pb	Fares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
pg	Ficogramos
pol	Polimerasa
q	Brazo largo de un cromosoma
p	Brazo corto de un cromosoma
SDS	Lauril sulfato de sodio
Vol	Volumen
U	Unidades
X	Veces la concentración
NRC	National Research Council



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN GENERAL

Ricardo M. Cerda Flores

Fecha de Graduación: Junio del 2001

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Biológicas

Título del estudio: ESTRUCTURA Y MEZCLA GENETICA DE LAS POBLACIONES MESTIZAS DEL NORESTE DE MEXICO MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES AUTOSOMICOS, MITOCONDRIALES Y DEL CROMOSOMA Y.

Número de páginas: 152

Candidato para el grado de Doctor en Ciencias Biológicas (Especialidad en Biología Celular y Genética).

Introducción: Como la Conquista de México fue una empresa esencialmente masculina y el número de mujeres blancas no era muy elevado durante el principio de la Colonia, de inmediato se inició el mestizaje entre Españoles y mujeres Amerindias. Posteriormente, con la llegada de los esclavos Africanos, la mezcla de éstos se realizó también con mujeres Amerindias. Con el avance del tiempo, la población resultante de la mezcla de estas tres poblaciones antecesoras se hizo tan numerosa que hoy en día es imposible distinguir por su apariencia física o fenotipo a los Mexicanos de diversos cruces consecutivos a través de su ascendencia.

Objetivo: Tener un mejor conocimiento de la estructura genética de la población Mexicana y estimar la contribución genética de las poblaciones antecesoras, mediante el uso de marcadores del DNA. Los resultados derivados de este estudio serán de gran utilidad en México en las áreas de la genética de poblaciones, evolución molecular, ligamiento y mapeo genético, pruebas de paternidad y análisis forense.

Hipótesis: La población Mestiza Mexicana, se derivó primordialmente del apareamiento de mujeres Amerindias con hombres principalmente de origen Español y en un menor grado Amerindios y Africanos.

Material y Métodos: Se entrevistaron y se obtuvieron muestras de sangre de 143 personas (saludables y no emparentadas) las que fueron tipificadas mediante la PCR para los marcadores de DNA: 1) Nuclear (D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, TH01, D16S539, D1980 y HLA-DQA1), 2) Mitocondrial (A, B, C, D, X6-7, E, F, G, H, I, J, K, L, M, T, U, V, W y X) y 3) Cromosoma Y (DYS391, DYS390, DYS389I, YAP y DYS199).

Resultados y Discusion: Este es el primer estudio que se realiza en la República Mexicana donde se abarcan los conceptos evolutivo, epidemiológico y forense.

Evolutivo: Se encontró que: 1) En ambos sexos, el 100% de la población Mestiza mostró haplotipos del DNAm^t Amerindio (A, B, C y D), 2) En ambos sexos, los marcadores del DNA nuclear (D1S80, HLA-DQA1 y 13 STRs) mostraron las siguientes contribuciones antecesoras: 55% Española, 40% Amerindia y 5% Africana, 3) En los hombres, los marcadores del DNA del cromosoma Y mostraron un 99% de contribución Española y el resto Amerindia y Africana y 4) La contribucion Española, Amerindia y Africana utilizando 15 marcadores del DNA nuclear fue similar a los estudios previos donde se utilizaron cinco grupos sanguíneos. Los tres primeros resultados apoyan la hipótesis planteada y el ultimo, valida los resultados previos.

Epidemiológico: Se encontró que las poblaciones Mestizas de los Estados de Nuevo León, Jalisco y el Distrito Federal comparten una estructura y mezcla genética similar. Este hallazgo tendrá profundas implicaciones en los estudios de asociación de enfermedades con genes en nuestro país ya que se facilitara el muestreo tanto de individuos afectados como de controles sin necesidad de detallar información acerca de su historia residencial o historia de migración entre Estados del país, lo que conduce a la posibilidad de una fácil colecta de grandes series de casos y controles.

Forense: Se encontró que: 1) La estructura y mezcla genética de las poblaciones Mestizas de México e Hispanas que residen en los Estados Unidos son similares. Esto será de gran ayuda para las autoridades Estadounidenses y Mexicanas, 2) Utilizando 13 STRs, se encontró una probabilidad de exclusion combinada de $1-8.90 \times 10^{-6}$ lo que indica que, en un promedio, alrededor de 1 de cada 112,360 hombres acusados erroncamente no seran excluidos como posibles padres, cuando una madre y su bebe sean tipificados y 3) Utilizando 13 STRs, se encontró un poder de discriminacion combinado de $1-2.83 \times 10^{-15}$ lo que indica que la probabilidad de encontrar dos personas que coincidan para estos marcadores geneticos es de 1 en 353 trillones de individuos. Dado lo anterior, estos marcadores de DNA pueden ser utilizados como una bateria de identificación forense en la población Mestiza Mexicana.

CAPITULO 1

1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS Y DEMOGRAFICOS

Se considera que los primeros pobladores del Continente Americano fueron ancestros asiáticos que cruzaron el estrecho de Bering, entrando en Alaska mucho antes del final de la glaciación Würm-Wisconsin, en una fecha que oscila entre los 15,000 y los 40,000 años, según los diferentes cálculos (Serrano-Sánchez, 1993).

La fecha que marcó el inicio del proceso de mezcla, que desembocó en el estado actual de los grupos humanos, se ha fijado en el año 1492, ya que lo sucedido durante los dos primeros años, siguientes al viaje del navegante genovés Cristobal Colón, modeló gran parte de la distribución humana del mundo actual (Coon, 1969).

En 1492, Fernando e Isabel expulsaron definitivamente de España a moros y judíos, con la excepción de aquellos que se convirtieron precipitadamente al catolicismo. A pesar de ello, muchos judíos conversos encontraron más fácil y seguro marchar al Nuevo Mundo. Después de 50 años de colonización se habían extendido por todas las zonas americanas que les correspondían, unos 15,000 Españoles siendo los mayores contingentes de andaluces y extremeños, pero después fueron de castellanos y vascos (Coon, 1969; Velasco, 1993).

1.2 MESTIZAJE

Como la Conquista fue una empresa esencialmente masculina y el número de mujeres blancas no era muy elevado durante el principio de la Colonia, de inmediato se inició el mestizaje entre Españoles y mujeres Amerindias que obtuvieron como esclavas prisioneras de guerra o como parte de sus encomiendas, por la fuerza o con el consentimiento de ellas. A veces parte de los regalos que les ofrecían los caciques indígenas era para apaciguar los ánimos de los conquistadores (Saéñz-Faulhaber, 1993).

Muchos de los iberos que llegaron a América estaban casados y habían dejado a sus familias en España. Sin embargo, durante la ocupación de la península por los árabes, que aceptaban el concubinato y la poliginia como institución, tener una concubina no era mal visto por muchos Españoles, naturalmente sin la aprobación eclesiástica. Para satisfacer sus necesidades sexuales en la Nueva España, las uniones libres o casuales entre hombres blancos y mujeres Indígenas eran en un principio dominante. Este hecho también fue aceptado por los hombres Indígenas, debido a la práctica de la poliginia antes de la conversión al cristianismo (Saéñz-Faulhaber, 1993).

Con la llegada de los esclavos negros, pronto también se inició su mezcla con los otros elementos raciales. Entre aquéllos, la proporción entre los sexos era también desigual, ya que se importaban por lo menos tres veces más hombres que mujeres (Saéñz-Faulhaber, 1993).

A mediados del siglo XVII, los negros sobrepasaban en número a los Españoles. Se calcula que en el año 1640, alrededor de 150,000 esclavos ya habían sido traídos a México (Saéñz-Faulhaber, 1993).

Del período 1568-1570 la población total de México era de 2,733,412 de los cuales 96.79% eran Amerindios, 2.30% eran Españoles, 0.09% Mestizos y 0.82% Negros (Saéñz-Faulhaber, 1993).

Con el avance del tiempo, la población resultante de la mezcla entre indios, blancos y negros se hizo tan numerosa que era imposible distinguir por su apariencia física o fenotipo a las personas de diversos cruces consecutivos a través de su ascendencia (Saéñz-Faulhaber, 1993).

Actualmente somos casi 100 millones de habitantes distribuidos en los 32 Estados de la República Mexicana (Censo 2000).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

1.3 ESTRUCTURA GENETICA DEL NORESTE DE MEXICO
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El Estado de Nuevo León, en el Noreste de México tiene una superficie de 64,555 Km² y en el 2000 contaba con una población de mas de 4 millones de habitantes. La ciudad de Monterrey, se localiza en la parte centrooccidental del Estado, junto con siete ciudades constituyen el área Metropolitana de Monterrey (AMM), donde se concentra el 78.38% de la población del Estado. (Censo 2000).

En 1821 el Estado tenía una población de 78,816 habitantes, con un alto grado de variación en la composición étnica en cada uno de sus municipios, con un promedio de 52% Española, 45% Indígena y Mestiza y 3% Africana; en la actualidad se considera que casi el 100% de la población es Mestiza con diferentes grados de mezcla génica (Viscaya 1969).

Ya que el Estado de Nuevo León fue colonizado, entre 1577 y 1596, hasta el momento, varios eventos históricos, demográficos y políticos han ocurrido, los que han influido en la estructura genética de la población. Se mencionarán cuatro de ellos:

1) Las poblaciones antecesoras, Indios nativos, Indios inmigrantes (Tlaxcaltecas, Lipanos y Comanches), Españoles, Portugueses, Judíos Sefarditas, Franceses y Alemanes (Hoyo 1979).

2) La inmigración debida al crecimiento industrial del área. En 1940 la población en el Estado tenía 541,147 habitantes, de los cuales el 39.24% residía en el AMM; mientras que en 1960 la población del Estado era de 1,078,848 habitantes y el 66.41% residía en el AMM. Este incremento fue debido a la inmigración de 400,000 personas principalmente de los Estados de San Luis Potosí, Coahuila, Zacatecas, la ciudad de México y algunos países extranjeros (Montemayor-Hernández 1971).

3) Ocho guerras en que los habitantes del Estado participaron, la Independencia de México (1810-1821),

la Independencia de Texas (1832), la guerra Estados Unidos-México (1846), la guerra de Ayutla (1854), las invasiones de los Lipanos y Comanches (1848-1870), la guerra de Reforma (1857-1860), la invasión Francesa (1862-1866) y la Revolución Mexicana (1910-1917).

- 4) Las epidemias de la viruela en el siglo XVII y de la fiebre amarilla en el siglo XIX (Hernández-Garza 1973; Montemayor-Hernández 1971).

1.4 MEZCLA GENETICA

Uno de los parámetros de utilidad para establecer las relaciones genéticas entre las poblaciones, es la mezcla génica que permite calcular en las poblaciones híbridas la proporción de genes provenientes de cada una de las poblaciones fundadoras (Chakraborty, 1975).

La mezcla génica consiste en la posibilidad de que dos poblaciones genéticamente diferentes se mezclen entre sí.

Supongamos dos grupos hipotéticos, uno formado exclusivamente por individuos homocigotos AA y el otro por sujetos en que todos son homocigotos aa. Del apareamiento de estos dos grupos, todos los individuos de la siguiente generación serán heterocigotos Aa, lo que significa un cambio importante en relación con cada uno de los grupos iniciales. Es probable que este mecanismo haya tenido importancia en nuestra especie hasta muy recientemente, porque la posibilidad de que grupos diferentes se mezclen está condicionada, entre otras cosas, por la situación geográfica de los mismos, y sólo desde hace poco tiempo la revolución en los sistemas de transporte ha permitido el

contacto fácil entre grupos diferentes. La fórmula que permite estimar en las poblaciones Mestizas la proporción de genes proveniente de cada una de las poblaciones antecesoras es:

$$\text{Porcentaje de Mezcla Génica} = (q^* - Q) / (q - Q) \times 100,$$

en donde q^* es la frecuencia alélica de la población híbrida (por ejemplo, Monterrey), mientras que q (Amerindia) y Q (Española) representan las frecuencias alélicas de las poblaciones antecesoras (aquéllas de que se formó la población Mestiza). El problema para la aplicación de esta fórmula es que habitualmente el único dato experimental con que se cuenta es la frecuencia del gen en la población Mestiza, mientras que las frecuencias de las poblaciones base son obtenidas de la literatura o del Internet, aceptando que son iguales o similares a las existentes cuando ocurrió la mezcla génica (Chakraborty 1986a,b, 1988, 1992a,b).

Para el Estado de Nuevo León son varios los trabajos donde se ha calculado el porcentaje de mezcla génica utilizándose como marcadores genéticos los grupos sanguíneos (Garza-Chapa, 1983; Cerda-Flores y Cols. 1987, 1988, 1989, 1991, 1992, 1994) y en los que se ha encontrado que:

- 1) Esta población tiene una mayor contribución Española que Amerindia.
- 2) En el estrato socioeconómico alto hay una mayor contribución Española que en el estrato socioeconómico

medio.

- 3) En la generación de 1894-1923 hay una mayor contribución Española que en la generación de 1954-1983.
- 4) En los individuos cuyos cuatro abuelos nacieron en Nuevo León hay una mayor contribución Española que los que nacieron fuera de Nuevo León.

1.5 POLIMORFISMO GENETICO Y MARCADOR GENETICO

Polimorfismo genético se define como la ocurrencia en una población de dos o más alelos para un locus con frecuencias alélicas mayores que lo que podría ser mantenido por mutación. Los polimorfismos son diferencias genéticas que proporcionan variación dentro de una especie. En la práctica, es difícil saber cómo la frecuencia de un alelo se puede mantener por mutación, así que una definición operacional de polimorfismo es comúnmente usada: Se dice que un polimorfismo existe si el alelo más común para un locus tiene una frecuencia menor al 99%. Estos polimorfismos son ubicuos, especialmente en las regiones no codificadoras del DNA (intrones) (Friedman y Cols. 1996).

Un marcador genético es una simple característica genética hereditaria con alelos reconocibles de inmediato. En otras palabras, un marcador genético es polimórfico y fácilmente detectable. Un marcador puede o no ser parte de un gen expresado. En general, los marcadores genéticos más valiosos son aquellos que son más polimórficos (Friedman y Cols 1996).

1.5.1 POLIMORFISMOS DEL DNA

El tipo de polimorfismo más utilizado en el campo de la Genética de Poblaciones es el polimorfismo del DNA (DNA mitocondrial, DNA nuclear y del cromosoma Y) el cual se puede identificar mediante la detección directa de la secuencia alterada del DNA como se observa en la Figura 1 (Friedman y Cols 1996):

a. Los polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) son variaciones hereditarias en la secuencia del DNA que resultan en la ganancia o pérdida de un sitio reconocido por una enzima de restricción (por ejemplo, *EcoRI* o *TaqI*). Los RFLPs pueden resultar en la alteración de la cantidad de nucleótidos entre tales sitios.

(1) Son transmitidos como características simples codominantes.

(2) Pueden ser detectados mediante Southern blot o mediante el análisis de fragmentos de DNA generados por la reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés, PCR).

(3) Han sido ampliamente usados en los estudios de ligamiento y mapeo genético.

b. Aproximadamente el 10% del genoma está compuesto por secuencias de DNA satélite (secuencias repetidas en tandem). Estas secuencias son llamadas así debido a su separación del resto del DNA genómico al someterse a centrifugación en un gradiente de densidad. El DNA satélite esta constituido por dos categorías de secuencias repetitivas en tandem que pueden ser utilizados como marcadores genéticos (Friedman y Cols

1996).

(1) Los polimorfismos de repeticiones cortas en tandem (STRs), las cuales son algunas veces llamadas microsátélites o simples secuencias repetitivas (SSRs), y que consisten de segmentos de DNA muy polimórficos que tienen por lo general una longitud menor a 1 kb y se componen de unidades repetitivas en tandem de 2, 3 o 4 nucleótidos. Un ejemplo es la repetición dinucleótida $(GT)_n$, la cual está compuesta de los nucleótidos guanina (G) y timina (T). La secuencia ...GTGTGTGTGTGT... puede tener de 10 a 60 unidades GT. Algunas características de los STRs son (Friedman y Cols 1996):

- a) Están presentes en numerosas copias en todo el genoma. Por ejemplo, existen aproximadamente 50,000 diferentes loci repetitivos $(GT)_n$ en los humanos. Ya que las secuencias de DNA que flanquean a cada repetición en tandem son diferentes, los loci repetitivos pueden ser distinguidos utilizando la técnica de PCR.
- b) Se transmiten como características codominantes simples.
- c) Se utilizan específicamente como marcadores genéticos en los estudios de ligamiento y mapeo genético.

(2) Los minisátélites son repeticiones en tandem muy polimórficos que van de 1 a 30 kb de longitud. Las secuencias repetitivas de los minisátélites son más grandes y complejas que los STRs (Friedman y Cols 1996).

a) Los minisatélites pueden presentarse en un solo sitio del genoma (sondas mono-locus) pero repeticiones similares se pueden presentar con frecuencia en muchos sitios diferentes del genoma (sondas multi-locus). Con los marcadores mono-locus, un individuo puede presentar una o dos bandas dependiendo si es homo o heterocigoto, respectivamente; con las sondas multi-locus, los individuos presentan alrededor de 18 bandas.

b) Los polimorfismos de tándem de número variable (VNTRs) son secuencias minisatélites del DNA que pueden ser identificados ya que estos marcadores presentan sitios reconocidos por enzimas de restricción. Los VNTRs son un tipo especial de RFLP y de minisatélite.

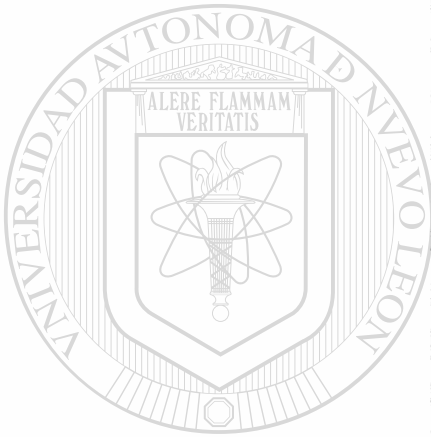
c) Los VNTRs se detectan comúnmente mediante el análisis de Southern blot pero éstos y otros marcadores minisatélites pueden identificarse por PCR.

d) Los minisatélites se transmiten como características codominantes simples pero cuando los minisatélites multi-locus son analizados en geles de Southern blot, esto no es a menudo aparente debido a la complejidad del perfil producido.

e) El gran polimorfismo y la complejidad de los minisatélites multi-locus los hace de un valor muy especial en la medicina forense. Sin embargo, la complejidad del perfil producido con minisatélites multi-locus ha conducido también a controversias en la

medicina forense, debido a la dificultad en determinar las frecuencias alélicas en las poblaciones.

- f) La huella digital del DNA (DNA fingerprinting), involucra por lo general la prueba de marcadores minisatélites, los que han sido utilizados para establecer la paternidad, determinar la cigocidad e identificar a un individuo específico en base a una pequeña muestra de sangre, semen, pelo u otro tejido. Esta tecnología se basa en la caracterización de regiones variables o polimórficas del material genético de los individuos. Con la excepción de los gemelos univitelinos, cada individuo tiene una huella digital de DNA única (Jeffrey y Cols. 1985a, b, c, 1986, 1991; Gill y Cols. 1985; Honma y Cols. 1989; Neufeld y Cols. 1990; Nakamura y Cols. 1987; Higuchi y Cols. 1988; Wayne y Cols. 1990; Wong y Cols. 1987). Los marcadores genéticos que pueden ser útiles en la identificación de individuos, deben tener un gran poder de discriminación [$PD = 1 - \sum p_i^2$, donde $\sum p_i^2$ = suma de cuadrados de las frecuencias relativas de los genotipos diferentes encontrados] o capacidad de distinguir entre dos individuos (variación genotípica) (Helmuth y Cols. 1990). Entre más alelos tenga un marcador genético (mayor polimorfismo) y más uniforme sea su distribución entre la población (mayor heterocigosidad), mayor será su PD.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1.5.2 TIPIFICACION DE MARCADORES DE DNA MEDIANTE LA PCR

La técnica de Southern blot se utilizaba inicialmente para realizar la genotipificación de marcadores tipo VNTR. Este ensayo requería de mucho tiempo, radiactividad y grandes cantidades de DNA (microgramos). Las regiones hipervariables (HVRs) se pueden analizar mediante técnicas de hibridación tipo Southern blot con sondas unilocus o multilocus marcadas con radiactividad, fluorescencia o con sustancias químicas cromógenas. Actualmente la tipificación de minisatélites y STRs por PCR tiene múltiples aplicaciones y ventajas.

El PCR vino a aumentar en mucho la sensibilidad de la tipificación de VNTRs ya que puede realizarse a partir de ng de DNA; además, ha representado numerosas ventajas como no utilizar radioactividad, la rapidez, menor consumo de reactivos y materiales, etc.

Utilizando iniciadores colocados de manera específica fuera de la regiones "core" y en regiones no repetitivas, se obtienen fragmentos amplificados por PCR de longitud inherente al número de repeticiones. Esta técnica representa un método conveniente para analizar loci VNTR y se le conoce como AmpFLP: polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados.

Utilizando la técnica Amp-FLP se pueden amplificar VNTR's con tamaño de hasta 2 kb y los fragmentos pueden separarse por Electroforesis en geles de poliacrilamida de alta resolución (PAGE). Los fragmentos pueden visualizarse con técnicas de tinción con bromuro de etidio, plata,

hibridando con sondas marcadas con fluorescencia o cromógenos.

1.5.3 POLIMORFISMO DEL DNA MITOCONDRIAL

Existen en el citoplasma de la mayoría de las células somáticas de mamíferos aproximadamente 1000 mitocondrias. Estos organelos, que son los sitios donde se lleva a cabo la respiración celular, pudieron haberse originado de bacterias ancestrales que desarrollaron una relación simbiótica con otras células que invadieron. Cada mitocondrion tiene una pequeña molécula circular de DNA. El aparente código universal del DNA nuclear no es aplicable estrictamente al de la mitocondria debido a que varios codones del DNA mitocondrial (DNAm^t) producen aminoácidos que difieren con los que produce el DNA nuclear y a la inversa también (Attardi y Cols. 1982; Barrel y Cols. 1979). El tamaño de la molécula, en el humano es de 16,569 pares de bases, estando en los mamíferos altamente conservado (Brown 1983). Una molécula de DNAm^t humano ha sido secuenciada completamente (Anderson y Cols. 1981).

Los primeros estudios concluyeron que la mayor variación en la secuencia del DNAm^t era debido únicamente a la sustitución de una sola base, pero la alta resolución en los estudios sobre sitios de restricción hicieron posible, al secuenciar el DNAm^t humano, que las mutaciones en las regiones no codificables eran producto de las inserciones y deleciones de muchas bases (Cann y Wilson 1983). Recientes revisiones literarias sobre el DNAm^t son dadas por Avise y Lansman y por Brown, ambas en 1983.

Las siguientes características son de interés particular en los estudios evolutivos en humano:

- a) La recombinación no se presenta en el DNAm_t de mamíferos (Aquadro y Cols. 1983).
- b) En animales superiores, el DNAm_t se heredará solamente a través de la línea materna. Los árboles genealógicos humanos con herencia mitocondrial deben mostrar que todos los descendientes de una madre afectada (por ejemplo, miopatías, síndromes neurológicos o cardiomiopatías) estarán afectados y todos los descendientes de un padre afectado serán normales (Lansman y Cols. 1983b).
- c) La substitución génica del DNAm_t es 10 vez más rápida que la del DNA nuclear (Brown y Cols. 1979), aunque hay algunos segmentos de la molécula que están impedidos para tener una rápida evolución (Aquadro y Cols. 1984). Esta alta tasa de substitución podría ser el resultado de una alta tasa de mutación intrínseca, o de una falta de mecanismos de reparación del DNA, durante un corto período generacional, o de otros factores (Brown, 1983; Cann y Cols. 1984; Cann[®] y Wilson 1983).

La herencia materna y la falta de recombinación del DNAm_t en los mamíferos garantizan que las combinaciones génicas del DNAm_t no serán rápidamente enmascaradas por la reproducción sexual, como ocurre en el caso del DNA nuclear. Este hecho ha sido explorado por análisis de la introgresión e hibridización en ratón (Lansman y Cols. 1983a) y en peces dorados (Avise y Saunders 1984).

Similares aplicaciones han podido llevarse a cabo en humanos.

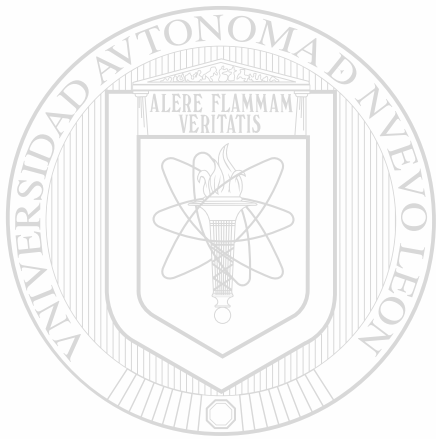
Debido a que el genoma del DNAm_t (secuencias únicas) es muy pequeño y fácil de aislar, es más cómodo trabajar en laboratorio con éste que con el DNA nuclear (secuencias repetitivas).

Los métodos de laboratorio para el análisis de los sitios de restricción del DNAm_t son los mismos a los del DNA nuclear, con la excepción de que no se necesitan hibridizar los fragmentos con sondas radioactivas. Esto es debido a que una determinada enzima cortará el DNAm_t en muy pocos lugares, produciendo un pequeño número de fragmentos. Los mismos fragmentos se pueden marcar radioactivamente y después visualizarse mediante la exposición de una membrana a los rayos X (Jorde 1985).

Utilizando la técnica de RFLP, Wallace y sus colaboradores han mostrado que la mayoría de los haplogrupos son específicos de los continentes (Wallace 1992). En Africa, del 70% al 100% de las poblaciones del sub-Sahara están representadas por el haplogrupo L (Chen y Cols. 1995). En Asia y la Siberia los DNAm_t pertenecen a los haplogrupos C, D, G y E, los cuales son miembros de los haplogrupos M (Ballinger y Cols. 1992; Torroni y Cols. 1993b, c; Chen y Cols. 1995), mientras que para el resto de Asia los DNAm_t pertenecen a los haplogrupos A, B, F, X6 y X7 (Torroni y Cols. 1994c, Merriwether y Ferrell 1996). Únicamente seis haplogrupos humanos de Asia (A, B, C, D, X6 y X7) son observados en los nativos de América (Schurr y Cols. 1990; Horai y Cols. 1995; Torroni y Cols. 1993a,

1994a, 1994d; Merriwether y Cols. 1994, 1995, 1996, Merriwether y Ferrell 1996, Easton y Cols. 1996). En Europa, el 99% del DNAmT pertenece a los 10 haplogrupos (H, I, J, K, M, T, U, V, W y T) (Torroni y Cols. 1994b, 1996).

La descripción detallada de todos estos haplogrupos se da en el la Tabla 1.1 mientras que en la Tabla 1.2 se muestra como se determina el haplotipo del DNAmT Amerindio de la población Mestiza Mexicana.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 1.1. Haplogrupos del DNAm humano.

Haplotipo	Sitios Polimórficos	Sonda (sentido, antisentido)	Población	Ref.
A	+663 HaeIII	534-553, 725-706	América, Asia	1
B	9pb-delección	8150-8166, 8366-8345	América, Asia	1
C	+13262 AluI	13197-13213, 13403-13384	América, Asia	1
D	-5176 AluI	5151-5170, 5481-5464	América, Asia	1
X6-7	-663 HaeIII	534-553, 725-706	Asia, América	2
	+13262 AluI	13197-13213, 13403-13384		
	+5176 AluI	5151-5170, 5481-5464		
	+10397 AluI	10270-10290, 10579-10557		
E	-7596 HhaI	7367-7384, 9172-9154	Asia	3
F	-1206 HincII	16453-16472, 1696-1677	Asia	3
G	+4830 HaeIII	3108-3127, 5917-5896	Asia	3
H	-7025 AluI	6890-6999, 7131-7115	Europa	4
I	-1715 DdeI	1615-1643, 1894-1874	Europa	4
	+8249 AvaII	8188-8207, 8366-8345		
	-10028 AluI	9911-9922, 10107-10088		
J	-13794 BstOI	13583-13605, 13943-13924	Europa	4
K	-8052 HaeII	8829-8845, 9184-9163	Europa	4
	+12308 HinfI	12104-12124, 12338-12309		
L	+5592 HpaI	3388-3406, 3717-3701	Africa	
M*	+10397 AluI	10270-10290, 10579-10557	América, Asia	4
T	+13366 BstHI	13172-13190, 13403-13384	Europa	4
	+15606 AluI	15409-15428, 15701-15682		
U	+12308 HinfI	12104-12124, 12338-12309	Europa	4
V	-4577 NlaIII	4308-4325, 4739-4720	Europa	4
W	+8249 AvaII	8188-8207, 8366-8345	Europa	4
	-8994 HaeIII	8829-8845, 9184-9163		
X	-1715 DdeI	1615-1643, 1894-1897	Europa	4

*M = C + D + E + G

1. Schurr y Cols. 1990, 2. Merriwether y Ferrell 1996, 3. Torroni y Cols. 1994c y 4. Torroni y Cols. 1995

Tabla 1.2. Determinación del haplotipo DNAm_t Amerindio de una persona Mestiza Mexicana mediante el corrimiento por separado de las sondas (sentido, antisentido) A, B, C y D en un gel de agarosa.

Sondas A	Sondas B	Sondas C	Sondas D	DNAm _t
+	L	-	+	A
-	S	-	+	B
-	L	+	+	C
-	L	-	-	D

+: presencia de la banda, -: ausencia de la banda, L: Banda grande y S: Banda pequeña.

1.5.4 EL MARCADOR GENETICO D1S80

El locus hipervariable D1S80 fue inicialmente identificado por la sonda pMCT118. Se localiza en el brazo corto del cromosoma 1 y tiene una segregación autosómica codominante (Nakamura y Cols. 1988).

El locus D1S80 contiene secuencias de DNA repetidas en tandem (VNTR) (Nakamura y Cols. 1987). La unidad que se repite tiene un tamaño de 16 pb de longitud y los alelos tienen tamaños variables desde 350 a 1000 pb. Más de 22 alelos diferentes han sido identificados y con unidades de repetición de 14 a 50 veces (Kloosterman y Cols. 1993).

El locus D1S80 fue clonado y secuenciado, lo que permitió identificar secuencias conservadas flanqueantes a la región hipervariable que sirvieron para diseñar iniciadores y utilizarlos para su amplificación y

tipificación por PCR (Kasai y Cols. 1990). Además, la secuencia nucleotídica obtenida confirmó que el tamaño de la unidad que se repite es de 16 pb y reveló que contiene una secuencia "core" GNNGTGGG, característica de los VNTR ricos en G. Dado que los alelos varían en el número de repeticiones, el tamaño de los fragmentos amplificados es variable. Estos pueden ser resueltos y tipificados mediante electroforesis en gel de poliacrilamida. Se han utilizado diferentes sistemas, PAGE en geles de alta resolución, discontinuos, teñidos con bromuro de etidio o plata (Kasai y Cols. 1990; Allen y Cols. 1991). Es un marcador genético altamente polimórfico e informativo, muy utilizado en ciencias forenses y genética.

D1S80 es un minisatélite altamente polimórfico tiene aplicación principalmente en estudios de identificación de individuos. El locus D1S80 es uno de los marcadores AMP-FLP mayormente caracterizado en el campo forense (Kasai y Cols. 1990; Budowle y Cols.1995, Kloosterman y Cols. 1993). Este locus es específico del DNA humano y se hereda siguiendo las leyes de Mendel (Cosso y Reynolds 1995). El Departamento de Genética Humana de la compañía Roche Molecular Systems, Inc. (Alameda, CA) ha desarrollado un estuche de tipificación para D1S80 (AmpliFLP D1S80 PCR Amplification Kit). La validación realizada a este estuche demostró que la tipificación se puede realizar a partir de material de evidencia, como manchas de sangre colectadas en escenas de crímenes (Cosso y Cols. 1995). Se han obtenido resultados confiables para D1S80 a partir de restos en descomposición, demostrando así que muestras que no son adecuadas para el análisis por RFLP pueden ser analizadas utilizando marcadores Amp-FLP (Hochmeister y Cols. 1991).

Para la amplificación de la región VNTR D1S80. Se utilizaron los iniciadores descritos por Kasai y Cols. 1990:

D1S80 sentido:

5'-GAA ACT GGC CTC CAA ACA CTG CCC GCC G-3'

D1S80 antisentido:

5'-GTC TTG TTG GAG ATC CAC CTC CCC CTT-3'.

1.5.5 EL MARCADOR GENÉTICO HLA-DQA1

El uso de la PCR y sondas oligo-alelo-específicas ha facilitado el estudio de los polimorfismos HLA en genes específicos de este complejo génico (Wordsworth 1991, Saiki y Cols. 1989). El más estudiado por PCR-SSOP es el locus HLA-DQA1 (Rivas y Cols. 1997). Este gen es de la clase II y contribuye en la respuesta inmune codificando la cadena alpha del heterodímero de superficie en las células presentadoras de los antígenos. El polimorfismo de DQA1 se localiza en el segundo exón del gen y al menos 8 alelos pueden ser detectados mediante PCR-SSOP (DQA1*0101, -*0102, -*0103, -*0201, -*0301, -*0401, -*0501 y -*0601). La compañía Perkin Elmer también desarrolló un estuche para la tipificación de DQA1, el cual ha sido utilizado ampliamente para caracterizar diferentes poblaciones, y es capaz de identificar 6 alelos (los alelos -*0401, -*0501, -*0601 se tipifican por una sola sonda). La combinación de estos seis alelos origina 21 genotipos diferentes (Perkin Elmer 1995, Comey y Budowle, 1991).

La tipificación del gen HLA-DQA1 se realizó con el estuche comercial AmplyType de Perkin Elmer que contiene los iniciadores GH26 y GH27 (Helmuth y Cols. 1990) que

incluyen biotina y que amplifican un fragmento de 242 ó 238 pb. Como iniciador sentido se empleó al GH26 (5'-GTGTGCCAGGTGTAAACTTGTACCAG-3') y como antisentido al GH27 (5'-CACGGATCCGGTAGCAGCGGTAGAGTTG-3').

1.5.6 LOS MARCADORES MICROSATELITES o STRs.

Las regiones hipervariables en donde la secuencia principal (core) que se repite en tandem tiene un tamaño de 2 a 5 pb, se denominan microsátélites o polimorfismos de repeticiones cortas en tandem (de sus siglas en inglés STRs).

El carácter polimórfico de los sitios STRs es el resultado de la variabilidad en el número de repeticiones en tandem de un alelo a otro. Diferentes tipos de loci STRs han sido descritos di-, tri- y tetranucleótidos (Litt y Luty 1989, Weber 1990, Edwards y Cols. 1991).

Hoy en día, el análisis de los STRs mediante la PCR es un método ampliamente utilizado para realizar la identificación de individuos (Fregeau y Fourney 1993, Schumm 1996, Kimpton y Cols. 1993, 1994). Además se pueden amplificar varios loci STRs mediante PCR multiplex y detectar los fragmentos con tinción con plata o en forma automatizada utilizando diferentes compuestos fluorescentes (Urquhart 1995).

En la Tabla 1.3 se proporciona la descripción de cada uno de los 13 STRs utilizados.

Tabla 1.3. Método de tipificación de 13 STRs con el Analizador Genético ABI PRISM 310.

Locus	Localización	Motif	Longitud
D3S1358	3p	TCTA(TCTG)1-3(TCTA)n	114-142
vWA	12p12-pter	TCTA(TCTG)3-4(TCTA)n	157-197
FGA	4q28	TTTC)3TTTT TTCT (CTTT)nCTCC	219-267
D8S1179	8	(TCT[A G])n	128-168
D21S11	21	(TCTA)n(TCTG)n[(TCTA)3TA(TCTA)3TCA(TCTA)2TCCA TA] (TCTA)n	189-343
D18S51	18q21.3	(AGAA)n	273-341
D5S618	5q21-31	(AGAT)n	135-171
D13S317	13q22-q31	(TATC)n	165-197
D7S820	7q11.21-2	(GATA)n	258-294
CSF1PO	5q33.3-34	(AGAT)n	281-317
TPOX	2p23-2pter	(AATG)n	218-242
TH01	11p15.5	(AATG)n	169-189
D16S539	16q24-qter	(GATA)n	264-304

<http://www.promega.com/tbs/Tmd009/TMD009.html>

<http://www.promega.com/geneticidentity/>

La Tabla 1.4 proporciona los dos procesos que se siguieron para tipificar los 13 STRs siguiendo las recomendaciones del proveedor de PROMEGA:

Tabla 1.4. Sistema GenePrint™ PowerPlex™ 1 + PowerPlex™ 2 = 13 STRs (CODIS*)

PowerPlex™ 1	PowerPlex™ 2
D5S818	
D13S317	
D7S820	
D16S539	
CSF1PO	
TPOX	TPOX
TH01	TH01
VWA	VWA
	FGA
	D21S11
	D8S1179
	D18S51
	D3S1358



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

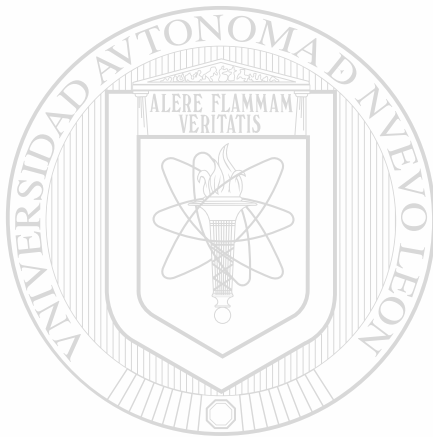
*CODIS: Combined DNA Indexing System
 (<http://www.promega.com/geneticidentity/>)

1.5.7 POLIMORFISMOS DEL DNA EN EL CROMOSOMA Y

La región no-pseudoautosómica del cromosoma Y es específica para hombres, haploide y libre de recombinación genética y por lo tanto puede proporcionar una visión evolutiva complementaria a la que provee el DNAm (Jobling y Tyler-Smith 1995, Pääbo 1995). Las secuencias del tipo STR son de particular significancia para las pruebas de identificación utilizadas en criminología. Al menos 14 sistemas de STRs para el cromosoma Y han sido descritas (DYS19, ~~DYS288~~, ~~DYS385~~, ~~DYS388~~, ~~DYS389I~~, ~~DYS389II~~, ~~DYS390~~, ~~DYS391~~, ~~DYS392~~, ~~DYS393~~, YCA I, YCA II, YCA III y DXYS156Y). Todos ellos son altamente polimórficos y han sido utilizados exitosamente en estudios poblacionales y evolutivos, trazando los lineajes paternos y también en exámenes forenses (Jobling y Tyler-Smith 1995, Hammer 1995, Kayser y Cols. 1997a). Las secuencias de los STRs del cromosoma Y pueden ser utilizadas para detectar y distinguir el DNA masculino. Por lo tanto, el análisis de los STRs-Y son una herramienta analítica adicional para los casos de violación y asalto sexual. Las aplicaciones de los STRs-Y (individualmente y/o en reacciones combinadas en Multiplex) parecen ser útiles para identificar el DNA masculino en mezclas de material masculino y femenino (Prinz y Cols. 1997). Antes de que cualquier nuevo locus sea aplicado en los casos forenses, deben de realizarse estudios poblacionales (como este estudio). Es bien sabido que las diferencias significativas en las frecuencias alélicas pueden ocurrir entre los principales grupos étnicos (Kayser y Cols. 1997b, de Knijff y Cols. 1997, Roewer y Cols. 1996). De allí que nos propusimos analizar en esta tesis únicamente 3 STRs-Y: ~~DYS391~~ (tetranucleótido;

6 alelos), DYS390 (tetranucleótido; 10 alelos), and DYS389I (tetranucleótido; 7 alelos) (de Knijff y Cols. 1997; Kayser y Cols. 1997b).

La descripción detallada de los tres microsátélites del cromosoma Y se da en la Tabla 1.5



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 1.5. Características de los tres STRs del cromosoma Y estudiados aquí.

Locus	Motif	NR	NA	TRA	DG	Secuencia de la sonda para PCR (5'-3')
DYS391	(CTAT) _n	8-13	6	275-295	0.49	CTATTCATTCAATCATACACCCA (sentido) GATTCTTTGGTGGGTCTG (antisentido)
DYS390	(CTG/AT) _n	18-27	10	191-227	0.73	TATATTTACACATTTTGGGCC (sentido) TGACAGTAAATGAACACATTGC (antisentido)
DY389I	(CTG/AT) _n	7-13	7	239-263	0.61	CCAACTCTCATCTGTATTATCTAT (sentido) TCTTATCTCCACCACCAGA (antisentido)

NR = Número de repeticiones

NA = Número de alelos

TRA = Tamaño del rango de los alelos (pb)

DG = Diversidad genómica

Fuente: Kayser y Cols. 1997a; pag 141-149.

En esta tesis se analizaron además dos marcadores de DNA específicos del cromosoma Y:

1. Un elemento de inserción de la familia Alu [(YAP = Y-Alu Polymorphism) or DYS287]. Se sabe que el polimorfismo se debe a la inserción de un elemento Alu en el locus DYS287 del cromosoma Y. El evento de inserción del elemento Alu (YAP+) dentro del cromosoma Y se sabe que ocurrió muy temprano en la evolución humana, entre 29,000 a 34,000 años en Africa (Hammer 1994, 1995). Todos aquellos individuos YAP+ pueden tener una cola de Poly-A larga o corta. La presencia de una cola larga (L) o corta (S) puede determinarse mediante la enzima de restricción HaeIII al realizarse la PCR. Las sondas de este marcador son:

DYS287 sentido: 5'- CAG GCG AAG ATA AAG AAA TA- 3'

DYS287 antisentido: 5'- ACT GCT AAA AGG GGA TGG AT- 3'.

Estas sondas amplifican fragmentos de 455 pb (YAP+) o 150 pb (YAP-) (Hammer y Horai 1995).

2. Un simple cambio de base (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) de C- T para el locus DYS199. El alelo DYS199T se ha encontrado únicamente en las poblaciones Amerindias (Underhill y Cols. 1996), donde es más predominante y se encuentra ligado al alelo DYS19 en la posición 186 pb, lo que indica que esta mutación ocurrió en el Continente Americano entre los Amerindios ancestrales, quienes tenían el pb 186. Los Europeos y Africanos son 100% DYS199C y los Amerindios tienen el 47.61% (399/838) DYS199C y el 52.39% (429/838) DYS199T (Underhill y Cols. 1996; Bianchi y Cols. 1998).

A continuación se muestra la secuencia nucleotídica completa de 241 pb del SNP DYS199. La posición nucleotídica polimórfica 181 está indicada en el paréntesis. Las regiones utilizadas para el diseño de las sondas están subrayadas.

5'- TAA TCA GTC CTC CTC CCA GCA AGT GAT ATG CAA CTG AGA TTC
CTT ATG ACA CAT CTG AAC ACT AGT GGA TTT GCT TTG TAG TAG GAA
CAA GGT ACA TTC GCG GGA TAA ATG TGG CCA AGT TTT ATC TGC TGC
CAG GGC TTT CAA ATA GGT TGA CCT GAC AAT GGG TCA CCT CTG GGA
CTG A(A)A ATT AGG AAG AGC TGG TAC CTA AAA TGA AAG ATG CCC
TTA AAT TTC AGA TTC ACA ATT TT -3'

1.6 IMPORTANCIA

Desde el punto de vista de colaboración a la ciencia básica, el trabajo que se realizó es importante, por su contribución al conocimiento del comportamiento de los genes en las poblaciones mestizas humanas, tanto en aspectos migratorios como de fenómenos de la población establecida en un lugar geográfico.

La importancia directa de los posibles orígenes, radica en que el conocimiento de ellos es útil para explicar algunos fenómenos patológicos que puedan estar presentes en esta población. Además, el valor histórico del trabajo es de interés, puesto que, la población en estudio ha recibido un alto grado de inmigrantes de otros Estados de la República Mexicana y de otros países del mundo, debido al auge industrial desde 1940.

El estudio permitirá también, establecer las relaciones que existen con otras poblaciones; tales como, semejanzas, diferencias y posibilidad de antecesores comunes.

El estudio de polimorfismo genético contribuyó para la caracterización genética de la población desde el punto de vista de cálculo de frecuencia de genes y genotipos, permitiendo esto la posibilidad de explicar algún fenómeno biológico o médico forense que esté o se presente posteriormente en la población.

Por último, la importancia residió también en que son pocos los estudios de este tipo a nivel nacional en donde se busque la caracterización genética de una población mediante marcadores con un alto grado de polimorfismo genético como lo son el DNA nuclear, el DNA mitocondrial y el cromosoma Y.

1.7 ORIGINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN

Originalidad. Este es el primer estudio de estructura y mezcla genética que se realiza en México utilizando marcadores moleculares del DNA nuclear, DNA mitocondrial y del cromosoma Y.

Mediante el estudio de estos marcadores polimórficos, el grupo de trabajo, integrado por científicos de México y de los Estados Unidos obtendremos un mejor conocimiento acerca de la estructura genética y de los eventos evolutivos que se han suscitado en la población Mexicana.

Además, las frecuencias alélicas que se obtuvieron son de gran utilidad en la medicina forense para la identificación de cadáveres, delincuentes involucrados en violaciones y crímenes, en comprobación de paternidad, en identificaciones de parentesco y en las relaciones étnicas de estudios antropológicos.

Justificación. El presente estudio se justifica ya que con el advenimiento de la tecnología, denominada huella digital del DNA (DNA fingerprinting), se podrá tener una mejor caracterización del material genético de las poblaciones del Noreste de México, a través del uso de las secuencias minisatélites del DNA conocidas como VNTRs con un alto grado de polimorfismo genético. Aunado a esto, la utilización de esta metodología en poblaciones donde no se cuenta con una base de datos de las frecuencias alélicas y genotípicas, ha suscitado controversias, especialmente cuando coincide el patrón genético de una muestra biológica de la evidencia de un crimen y la del sospechoso: esto ocurre cuando no se conoce la probabilidad de coincidencia al azar ($PCA = 2q^2 - q^3$, donde q = frecuencia alélica media) entre dos individuos de una población sin parentesco familiar y que tengan al azar un genotipo idéntico (Wong y Cols. 1987). Este es el problema principal y el punto de controversia en los casos legales, y su resolución requiere de la aplicación de los métodos de la genética de poblaciones (Cohen 1990; Chakraborty y Cols. 1991a).

1.8 HIPÓTESIS

Asumiendo que la selección natural no está involucrada en el mantenimiento de la variación genética de los marcadores moleculares del DNA nuclear, DNAm_t y DNA del cromosoma Y, se espera, al ser utilizados todos ellos por separado, que sean diferentes los porcentajes de mezcla genética por líneas maternas y paternas de las poblaciones Española, Amerindia y Africana para la población Mestiza Mexicana. De ser así, la hipótesis del presente estudio es:

La población Mestiza Mexicana, se derivó primordialmente del apareamiento de mujeres Amerindias con hombres principalmente de origen Español y en un menor grado con Amerindios y Africanos.

1.9 OBJETIVOS

Dado lo extenso de esta tesis y para brindar una mejor comunicación al lector, los objetivos del presente estudio se darán por separado en cada uno en los próximos cuatro capítulos. No sin antes dar una descripción general del área de estudio y de la metodología utilizada para la recolección de las muestras. Cabe mencionar que los capítulos restantes corresponden a las cuatro publicaciones derivadas de este estudio.

1.10 DESCRIPCIÓN DEL AREA DE ESTUDIO.

El estudio se desarrolló por entrevista personal por medio de encuestas a 143 personas de ambos sexos, en diferentes Unidades del Instituto Mexicano del Seguro Social en el Area Metropolitana de Monterrey y en las escuelas preparatorias y facultades de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El tamaño de muestra y el potencial estadístico de este estudio, se determinaron utilizando el criterio de Chakraborty (1992c) y Chakraborty y Zhong (1994) para VNTRs. Los criterios que se tomaron para las personas que participaron en el estudio fueron:

- a) Que estén aparentemente sanas
- b) Que no tengan parentesco con otros participantes en el estudio.
- c) Que conozcan el lugar de nacimiento de sus cuatro abuelos.
- d) Que no hubieran recibido transfusiones sanguíneas.
- e) Que no estuvieran tomando medicamento capaz de interferir con el estudio.

A cada persona se le explicó el propósito del estudio y se le pidió su colaboración voluntaria para encuestarlo y tomarle 5 ml de sangre periférica. En caso de aceptar, se le pidió que firmara una hoja donde autorizaba participar en el estudio. Por otro lado, se asumió de nuestra parte el compromiso de utilizar los resultados sólo para fines científicos en el campo de la Genética de Poblaciones y a que el entrevistado quedaría bajo el anonimato, destruyendo la variable que lo identifica dentro de la base de datos.

En las encuestas se recabó la siguiente información:

Identificación: RC-001 a RC-143

Dirección particular

Fecha de encuesta

Nombre

Apellido paterno

Apellido materno

Fecha de nacimiento

Edad (años)

Sexo

Lugar de nacimiento (municipio y Estado)

Apellidos del padre

Lugar de nacimiento del padre (Estado)

Apellidos de la madre

Lugar de nacimiento de la madre (Estado)

Lugar de nacimiento de los 4 abuelos

Estado Civil

Nombre de la esposa (espos)

Apellidos de la esposa (espos)

Tiempo de residir en el AMM

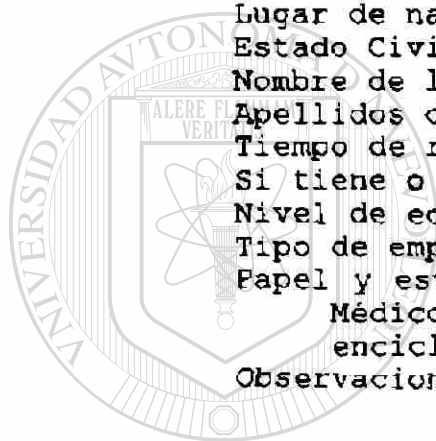
Si tiene o no teléfono

Nivel de educación

Tipo de empleo

Papel y estatus (ej: un individuo tiene un papel de Médico y su estatus es el de vender enciclopedias)

Observaciones



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

1.11 METODOLOGÍA

Después de ser entrevistado, a cada individuo se le tomaron 5 ml de sangre periférica, los que se colocaron en tubos Vacutainer (16 x 100 mm) con EDTA (K3). Las muestras y las hojas de encuestas que se colectaron de Marzo a Junio de 1997, se llevaron al Centro de Investigación Biomédica del Noreste (CIBIN), IMSS. Inmediatamente se tomaron 6.5 µl de sangre de los tubos con EDTA mediante pipetas de plástico "Jumbo Bulb Pipet" (Beral Inc, Chatsworth, CA), para colocarlas en tarjetas FTA (FTA™ Fitzco Inc, Maple Plain, MN), cuya presentación es de cuatro círculos a los que se les aplicó 1.5 µl de sangre a cada círculo. La tarjeta FTA se colocó en una superficie plana y se dejó por una hora hasta que se secó la sangre para posteriormente ser colocada en una bolsa de plástico (Fitzco Inc, Maple Plain, MN) conteniendo silicato (absorbente de humedad) [SORB-IT, UD Belen, NM].

De acuerdo a la compañía FITZCO, Inc, las muestras de sangre colocadas en las tarjetas FTA:

- (1) Pueden durar hasta seis años.
- (2) Se pueden mantener a temperatura ambiente.
- (3) Puede obtenerse el DNA purificado de: sangre, saliva, bacterias, virus y plantas.
- (4) Puede eliminar los patógenos de la muestra (por ejemplo: virus, bacterias y hongos).

BIBLIOGRAFIA

- Allen R, Budowle B, Chakraborty R, Giusti A, Eisenberg A. 1991. Analysis of the VNTR Locus AmpliFLP D1S80 by the PCR Followed by High-Resolution PAGE. *American Journal of Human Genetics* 48: 137-144.
- Anderson S, Bankier AT, Barrell, BG, de Bruijn MHL, Coulson AR, y Cois. 1981 Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290:457-465.
- Aquadro CF, Greenberg BD. 1983. Human mitochondrial DNA variation and evolution: Analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics* 103:287-312.
- Aquadro CF, Kaplan N, Risko KJ. 1984. An analysis of the dynamics of mammalian mitochondrial DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* 1:423-434.
- Attardi G, Chomyn A, Montoya J, Ojala D. 1982. Identification and mapping of human mitochondrial genes. *Cytogenet. Cell Genet.* 32:85-98.
- Avise JC, Lansman RA. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of higher animals. In *Evolution of Genes and Proteins*, ed. M. Nei, R.K. Koehn, pp. 147-164. Sunderland, Mass: Sinauer.
- Avise JC, Saunders NC. 1984. Hybridization and introgression among species of sunfish (*Lepomis*): Analysis by mitochondrial DNA and allozyme markers. *Genetics* 108:237-255.
- Ballinger SW, Schurr TG, Torroni A, Gan YY, Hodge JA, Hassan K, Chen KH, Wallace DC. 1992. Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient mongoloid migrations. *Genetics* 130:139-152.

- Barrell BG, Bankier AT, Drouin J. 1979. A different genetic code in human mitochondria. *Nature* 282:189-94.
- Bianchi NE, Catanesi CI, Bailliet G, Martinez-Marignac VL, Bravi CM, Vidal-Rioja LB, Herrera RJ, Lopez-Camelo JS. 1998. Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World Native populations. *Am J Hum Genet* 63:1862-1871.
- Brown WM. 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. In *Evolution of Genes and Proteins*, ed M. Nei, R.K. Koehn, pp 62-88. Sunderland, Mass: Sinauer.
- Brown WM, George M, Wilson AC. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:1967-1971.
- Budowle B, Baechtel S, Smerick JB, Presley KW, Giusti AM, Parsons G, Alevy MC, Chakraborty R. 1995. D1S80 Population Data in African Americans, Caucasians, Southeastern Hispanics, Southwestern Hispanics, and Orientals. *Journal of Forensic Sciences* 40(1): 38-44.
- Cann RL, Wilson AC. 1983. Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics* 104:699-711.
- Cann RL, Brown WM, Wilson AC. 1984. Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA. *Genetics* 106:479-499.
- Censo, 2000. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2000. XII Censo general de población y vivienda. México, DF: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (<http://www.INEGI.gob.mx>).
- Cerda-Flores RM, Ramirez-Fernandez E, Garza-Chapa R. 1987. Genetic admixture and distances between populations from Monterrey, Nuevo León, México, and their putative ancestral populations. *Hum. Biol.* 59:31-49.

- Cerda-Flores RM, Garza-Chapa R. 1988. Frequency of ABO and Rh (D) in three generations of a population from the metropolitan area of Monterrey, N.L. México. Arch. Invest. Med. 19:79-89.
- Cerda-Flores RM, Garza-Chapa R. 1989. Variation in the gene frequencies of three generations of humans from Monterrey, Nuevo León, México. Hum. Biol. 61:249-61.
- Cerda-Flores RM, Kshatriya GK, Barton SA, Leal-Garza CH, Garza-Chapa R, Schull WJ, Chakraborty R. 1991. Genetic structure of the populations migrating from San Luis Potosi and Zacatecas to Nuevo León in México. Hum. Biol. 63:309-27.
- Cerda-Flores RM, Kshatriya GK, Bertin TK, Hewett-Emmett D, Hanis CL, Chakraborty R. 1992. Gene diversity and estimation of genetic admixture among Mexican-Americans of Starr County, Texas. Annals Hum. Biol. 19:347-60.
- Cerda-Flores RM, Barton SA, Hanis CL, Chakraborty R. 1994. Genetic variation by birth-cohorts in Mexican Americans of Starr County, Texas. Amer. J. Hum. Biol. 6:669-674.
- Chakraborty R. 1975. Estimation of race admixture—a new method. Am J Phys Anthropol. 42:507-511.
- Chakraborty R. 1986a. Gene admixture in human populations: models and predictions. Yearbook Physical Anthropol 29:1-43.
- Chakraborty R, Ferrell RE, Stern MP, Haffner SM, Hazuda HP, Rosenthal M. 1986b. Relationship of prevalence of noninsulin dependent diabetes mellitus with Amerindian admixture in the Mexican Americans of San Antonio, Texas. Genet Epidemiol 3:435-454.

- Chakraborty R, Weiss KM. 1988. Admixture as a tool for finding linked genes and detecting that difference from allelic association between loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:9119-9123.
- Chakraborty R, Kidd KK. 1991a. The utility of DNA typing in forensic work. *Science* 254:1735-1739.
- Chakraborty R, Kamboh MI, Nwankwo M, Ferrell RE. 1992a. Caucasian genes in American blacks: New data. *Am J Hum Genet* 50:145-155.
- Chakraborty R, Srinivasan MR. 1992b. A modified "best maximum likelihood" estimator of line regression with errors in both variables: An application for estimating genetic admixture. *Biomet J* 5:567-576.
- Chakraborty R. 1992c. Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing. *Hum. Biol* 64:141-159.
- Chakraborty R, Zhong Y. 1994. Statistical power of an exact test of Hardy-Weinberg proportions of genotypic data at a multiallelic locus. *Hum Heredity* 44:1-9.
- Chen Y-S, Torroni A, Excoffier L, Santachiara-Benerecetti AS, Wallace DC. 1995. Analysis of mtDNA variation in African populations reveals the most ancient of all human continent-specific haplogroups. *Am J Hum Genet* 57:133-149.
- Cohen JE. 1990. DNA fingerprinting for forensic identification: potential effects on data interpretation of subpopulation heterogeneity and band number variability. *Am J Hum Genet* 46:358-368.
- Comey CT, Budowle B. 1991. Validation studies on the analysis of the HLA-DQA1 locus using the polymerase chain reaction. *Journal of Forensic Sciences* 36(6): 1633-1648.

- Coon CS. 1969. Las razas humanas actuales. 1a Ed. Ediciones Guadarrama, SA, Madrid, España.
- Cosso S, Reynolds R. 1995. Validation of the AmpliFLP™ DIS80 PCR Amplification Kit for Forensic Casework Analysis According to TWGDAM Guidelines. Journal of Forensic Sciences 40(3):424-434.
- de Knijff P, Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrmann S, Herzog B, Hidding M, Honda K, Jobling M, Krawczak M, Leim K, Meuser S, Meyer E, Oesterreich W, Pandya A, Parson W, Penacino G, Perez-Lezaun A, Piccinini A, Prinz M, Roewer L, y Cols.. 1997. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. Int J Legal Med.110:134-49.
- Easton RD, Merriwether DA, Crews DE, Ferrell RE. 1996. MtDNA variation in the Yanomami: Evidence for additional New World Founding Lineages. Am J Hum Genet 59:213-225.
- Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. 1991. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. Am J Hum Genet 49:746-756.
- Fregeau CJ, Fourney RM. 1993. DNA Typing with Fluorescently Tagged Short Tandem Repeats: A sensitive and Accurate Approach to Human Identification. BioTechniques 15:100-119.
- Friedman JM, Dill FJ, Hayden MR, McGillivray. 1996. Genetics. 2nd ED. Williams & Wilkins, Inc.
- Garza-Chapa R. 1983. Genetic distances for ABO and Rh(D) blood groups in the state of Nuevo León, México. Soc Biol 30:24-31
- Gill P, Jeffreys A, Werrett D. 1985. Forensic application of DNA fingerprints. Nature 318:577.

- Hammer MF. 1994. A recent insertion of an Alu element on the Y chromosome is a useful marker for human population studies. *Mol Biol Evol.* 11:749-761.
- Hammer MF. 1995. A recent common ancestry for human Y chromosomes. *Nature.* 378:376-8.
- Hammer MF, Horai S. 1995. Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan. *Am J Hum Genet* 56:951-962.
- Helmuth R, Fieldes N, Blake E, Luce MC, Chimera J, Madej R, Gorodezky C, Stoneking M, Schmill N, Klitz W, Higuchi R, Erlich HA. 1990. HLA-DQA1 allele and genotype frequencies in various human populations, determined by using enzymatic amplification and oligonucleotide probes. *Am J Hum Genet* 47:515-523.
- Hernandez-Garza, TL. 1973 Breve Historia de Nuevo León. 3a ed. Editorial Trillas, México.
- Higuchi R, Von Beroldingen C, Sensabaugh G, Erlich H. 1988. DNA typing from single hairs. *Nature* 332:543-545.
- Hochmeister MN, Budowle B, Borer UV, Eggmann U, Comey CT, Dimhofer R. 1991. Typing of Deoxynuclei Acid (DNA) Extracted from Compact Bone from Human Remains. *Journal of Forensic Sciences* 36; 1649-1661.
- Honma M, Yoshi T, Ishiyama I, Mitani K, Kominami R, Muramatsu R. 1989. Individual identification from semen by the deoxyribonucleic acid (DNA) fingerprint technique. *Forensic Sci* 34:222-227.
- Horai S, Hayasaka K, Kondo R, Tsugane K, Takahata N. 1995. Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:532-536.
- Hoyo H del. 1979. Historia del Nuevo Reino de León (1577-1723). 2nd. Ed. Editorial Libros de México, SA., México.

Jeffrey AJ, Wilson V, Thein SL. 1985a. Individual-specific "fingerprints" of human DNA. *Nature* 316:76-79.

Jeffrey AJ, Wilson V, Thein SL. 1985b. Hypervariable "minisatellite regions in human DNA. *Nature* 314:67-73.

Jeffrey AJ, Brookfield J, Semenov R. 1985c. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature* 317:818.

Jeffrey AJ, Wilson V, Thein SL, Weatherall DJ, Ponder BA. 1986. DNA "fingerprints" and segregation analysis of multiple markers in human pedigrees. *Am J Hum Genet* 39:11-24.

Jeffrey AJ, Turner M, Debenham P. 1991. The efficiency of multilocus DNA fingerprint probes for individualization and establishment of family relationships, determined from extensive casework. *Am J Hum Genet* 48:824-840.

Jobling MA, Tyler-Smith C. 1995. Fathers and sons: Y chromosome and human evolution. *Trends Genet* 11:449-456.

Jorde LB. 1985. Human genetic distance studies: Present status and future prospects. *Ann Rev Anthropol* 14:343-373.

Kasai K, Nakamura Y, White R. 1990. Amplification of a Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) Locus (pMCT118) by the Polymerase Chain Reaction (PCR) and Its Application to Forensic Science. *Journal of Forensic Sciences* 35(5):1196-1200.

Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrmann S, Herzog B, Hidding M, Honda K, Jobling M, Krawczak M, Leim K, Meuser S, Meyer E, Oesterreich W, Pandya A, Parson W, Penacino G, Perez-Lezaun A, Piccinini A, Prinz M, Schmitt C, Roewer L, y Cols.. 1997a. Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med.* 110:125-33, 141-149.

Kayser M, de Knijff P, Dieltjes P, Krawczak M, Nagy M, Zerjal T, Pandya A, Tyler-Smith C, Roewer L. 1997b. Applications of microsatellite-based Y chromosome haplotyping. *Electrophoresis* 18:1602-7.

Kimpton CP, Gill P, Walton A, Urquhart A, Millican ES, Adams M. 1993. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *PCR Methods Appl.* 3:13-22.

Kimpton CP, Fisher D, Watson S, Adams M, Urquhart A, Lygo J, Gill P. 1994. Evaluation of an automated DNA profiling system employing multiplex amplification of four tetrameric STR loci. *Int J Legal Med.* 106:302-11.

Kloosterman AD, Budowle B, Daselaar P. 1993. PCR-Amplification and Detection of the Human D1S80 VNTR Locus: Amplification Conditions, Population Genetics, and Application in Forensic Analysis. *International Journal of Legal Medicine* 105: 257-264.

Lansman RA, Avise JC, Aquadro CF, Shapira JF, Daniel SW. 1983a. Extensive genetic variation in mitochondrial DNA's among geographic populations of the deer mouse, *Peromyscus maniculatus*. *Evolution* 37:1-16.

- Lansman RA, Avise JC, Huettel MD. 1983b. Critical experimental test of the possibility of "paternal leakage" of mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci USA 80:1969-1971.
- Litt M, Luty JA. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. Am J Hum Genet 44:397-401.
- Merriwether DA, Ferrell RE. 1996. The four founding lineage hypothesis for the New World: A critical reevaluation. Mol. Phylogenet. Evol 5:241-246.
- Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE. 1994. Genetic variation in the New World: Ancient teeth, bone, and tissue as sources of DNA. Experientia 50:592-601.
- Merriwether DA, Hall WW, Vahlne A, Ferrell RE. 1996. mtDNA variation indicates Mongolia may have been the source for the founding populations for the New World. Am J Hum Genet 59:204-212.
- Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE. 1995. Distribution of the four founding lineages haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. Am J Phys Anthropol 98:411-430.
- Montemayor-Hernandez A. 1971. Historia de Monterrey. Asociación de Editores de Monterrey, AC, México.
- Nakamura Y, Leppert M, O'Connell P, Wolff R, Holm T, Culver M, y Cols. 1987. Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. Science 235:1616-1635.
- Nakamura Y, Carlson M, Krapcho K, White R. 1988. Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence (pMCT118) on chromosome 1p (D1S80). Nucleic Acids Research 16:9364.

- Neufeld PJ, Colman N. 1990. When science takes the witness stand. *Scientific American* 262:18-24.
- Pääbo S. 1995. The Y chromosome and the origin of all of us (men) *Science*. 268:1141-2.
- Perkin Elmer. 1995. AmpliType HLA-DQA1 PCR Amplification and Typing Kit Protocol.
- Prinz M, Boll K, Baum H, Shaler B. 1997. Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples. *Forensic Sci Int*. 85:209-18.
- Rivas F, Zhong Y, Olivares N, Cerda-Flores RM, Chakraborty R. 1997. Worldwide Genetic Diversity at the HLA-DQA1 Locus. *American Journal of Human Biology* 9:735-749.
- Roewer L, Kayser M, Dieltjes P, Nagy M, Bakker E, Krawczak M, de Knijff P. 1996. Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet*. 5:1029-33.
- Sáenz-Faulhaber ME. 1993. El mestizaje en la integración de la población colonial. El poblamiento de México (Una visión histórico-demográfica). Tomo II. El México colonial. Consejo Nacional de Población, México.
- Saiki RW, Walsh PS, Levenson CH, Erlich HA. 1989. Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence specific oligo nucleotide probes. *Proc Natl acad Sci USA* 86:6230-6234.
- Schumm JW. 1996. New Approaches to DNA Fingerprint Analysis. *Promega Notes* 58:12-20.

Schurr TG, Ballinger SW, Gan Y-Y, Hodge JA, Merriwether DA, Lawrence DN, Knowler WC, Weiss KM, Wallace DC. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* 46:613-623.

Serrano-Sanchez C. 1993. Origen del hombre americano y perfil biológico de la población prehispánica de México. El poblamiento de México (Una visión histórico-demográfica). Tomo I. El México prehispánico. Consejo Nacional de Población, México.

Torróni A, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel JV, Larsen M, Smith DG, Vullo CM, Wallace DC. 1993a. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am J Hum Genet* 53:563-590.

Torróni A, Schurr TG, Yang C-C, Szathmary EJ, Williams RC, Schanfield MS, Troup GA, Knowler WC, Lawrence DN, Weiss KM, Wallace DC. 1993b. Native American mtDNA analysis indicates that the Ameind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics* 130:153-162.

Torróni A, Sukernik RI, Schurr TG, Starikovskays YB, Cabell MF, Crawford MB, Comuzzie AG, Wallace DC. 1993c. MtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am J Hum Genet* 53:591-608.

Torróni A, Chen Y, Semino O, Santachiara-Beneceretti AS, Scott CR, Lott MT, Winter M, Wallace DC. 1994a. MtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four native American populations from southern Mexico. *Am J Hum Genet* 54:303-318.

Torrioni A, Lott MT, Cabell MF, Chen Y, Laverge L, Wallace DC. 1994b. MtDNA and the origin of Caucasians identification of ancient Caucasian-specific haplogroups, one of which is prone to a recurrent somatic duplication in the D-loop region. *Am J Hum Genet* 55:760-776.

Torrioni A, Miller JA, Moore LG, Zamudio S, Zhuang J, Droma R, Wallace DC. 1994c. MtDNA analysis in Tibet. Implications for the origin of the Tibetan population and its adaptation to high altitude. *Am J Phys Anthr.* 93:189-199.

Torrioni A, Neel JV, Barrantes R, Schurr TG, Wallace DC. 1994d. A mtDNA 'clock' for the Amerinds and its implication for timing their entry into North America. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1158-1162.

Torrioni A, Wallace DC. 1995. MtDNA haplogroups in Native Americans. *Am J Hum Genet* 56:1234-1236.

Torrioni A, Huoponen K, Francalacci P, Petrozzi M, Merelli L, Scozzari R, Obinu D, Savontaus ML, Wallace DC. 1996. Classification of European mtDNAs from an analysis to three European populations. *Genetics* 144:1835-1850.

Underhill PA, Jin L, Zemans R, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL. 1996. A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:196-200.

Urquhart A, Oldroyd NJ, Kimpton CP, Gill P. 1995. Highly Discriminating Heptaplex Short Tandem Repeat PCR System for Forensic Identification. *BioTechniques* 18:116-121.

Velasco MP. 1993. La migración ibérica y africana: características e impactos regionales. El poblamiento de México (Una visión histórico-demográfica). Tomo II. El México colonial. Consejo Nacional de Población, México.

Viscaya Canales I. 1969. Composición étnica de la población de Nuevo León a la consumación de la Independencia. Anuario del CEH de la UANL. Humanitas 10:447-450.

Wallace DC. 1992. Mitochondrial genetics: a paradigm for aging and degenerative diseases? Science 256:628-632.

Waye JS, Fourney RM. 1990. Identification of complex DNA polymorphism based on variable number of tandem repeats (VNTR) and restriction site polymorphism. Hum Genet 84:223-227.

Weber JL. 1990. Informativeness of human (dC-dA)_n X (dG-dT)_n polymorphisms. Genomics 7:524-530.

Wong Z, Wilson V, Patel I, Povey S, Jeffrey AJ. 1987. Characterization of a panel of highly variable minisatellites cloned from human DNA. Ann Hum Genet. 269-288.

Wordsworth P. 1991. PCR-SSO Typing in HLA-Disease Association Studies. European Journal of Immunogenetics 18: 139-146.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 2

MEZCLA GENICA EN TRES POBLACIONES MESTIZAS DE MEXICO: MARCADORES D1S80 Y HLA-DQA1.

RESUMEN

El presente estudio, compara los polimorfismos genéticos de los loci D1S80 y HLA-DQA1 en tres poblaciones Mestizas Mexicanas (Nuevo León, Jalisco y el Distrito Federal). En este estudio se demuestra que la distribución de las frecuencias génicas son homogéneas en las tres muestras. Solo la población del Distrito Federal mostró mínimas diferencias de las frecuencias alélicas para el HLA-DQA1 con respecto a las otras dos poblaciones Mestizas. En términos de estructura genética, todas las poblaciones Mestizas presentaron evidencias de mestizaje principalmente con las poblaciones antecesoras Española (50-60%) y Amerindia (37-49%) y en un menor grado con la Africana (1-3%). Al realizar una comparación de las mezclas génicas para estas tres poblaciones, no se observaron diferencias significativas para D1S80 y HLA-DQA1. Todas ellas al compararse con el porcentaje de mezcla génica de un estudio previo con grupos sanguíneos tampoco mostraron diferencias significativas. Todo lo anterior nos indica que estos dos marcadores moleculares son útiles para examinar homogeneidad/heterogeneidad a través de todas las poblaciones Mestizas Mexicanas. La relación inversa de la proporción de la diversidad génica debido a las diferencias poblacionales dentro de la diversidad genética poblacional es consistente con las predicciones teóricas, lo que apoya de nueva cuenta la utilidad de estos dos marcadores moleculares para los estudios en genética de poblaciones.

INTRODUCCION

El pool génico de las poblaciones Mestizas Mexicanas derivan de tres fuentes principales: Europeos (Españoles), Amerindios y Africanos (Lisker 1981). Son pocos los estudios con grupos sanguíneos y proteínas séricas que apoyan la etnohistoria de las poblaciones Mestizas Mexicanas (Cerdeña-Flores y Cols. 1987, 1988, 1989, 1991, 1994, 2000; Crawford y Cols. 1976a, 1976b; Garza-Chapa y Cols. 1983, 2000; Lisker y Babinsky 1986; Lisker y Cols. 1986, 1988, 1990; Tiburcio y Cols. 1978).

No han sido llevados a cabo estudios sistemáticos con marcadores moleculares de DNA, este es el primer estudio donde se proporciona información de dos marcadores de DNA altamente polimórficos (D1S80 y HLA-DQA1) en tres de los Estados (Figura 2.1) más grandes en toda la República Mexicana (Nuevo León, Jalisco y el Distrito Federal).

El Estado de Nuevo León, uno de los cinco Estados del Noreste de México (que incluyen los Estados de Coahuila, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas) tiene una población de aproximadamente 3.8 millones de habitantes. El Estado de Jalisco tiene aproximadamente 6.3 millones y el Distrito Federal aproximadamente 17.8 millones (Censo, 2000).

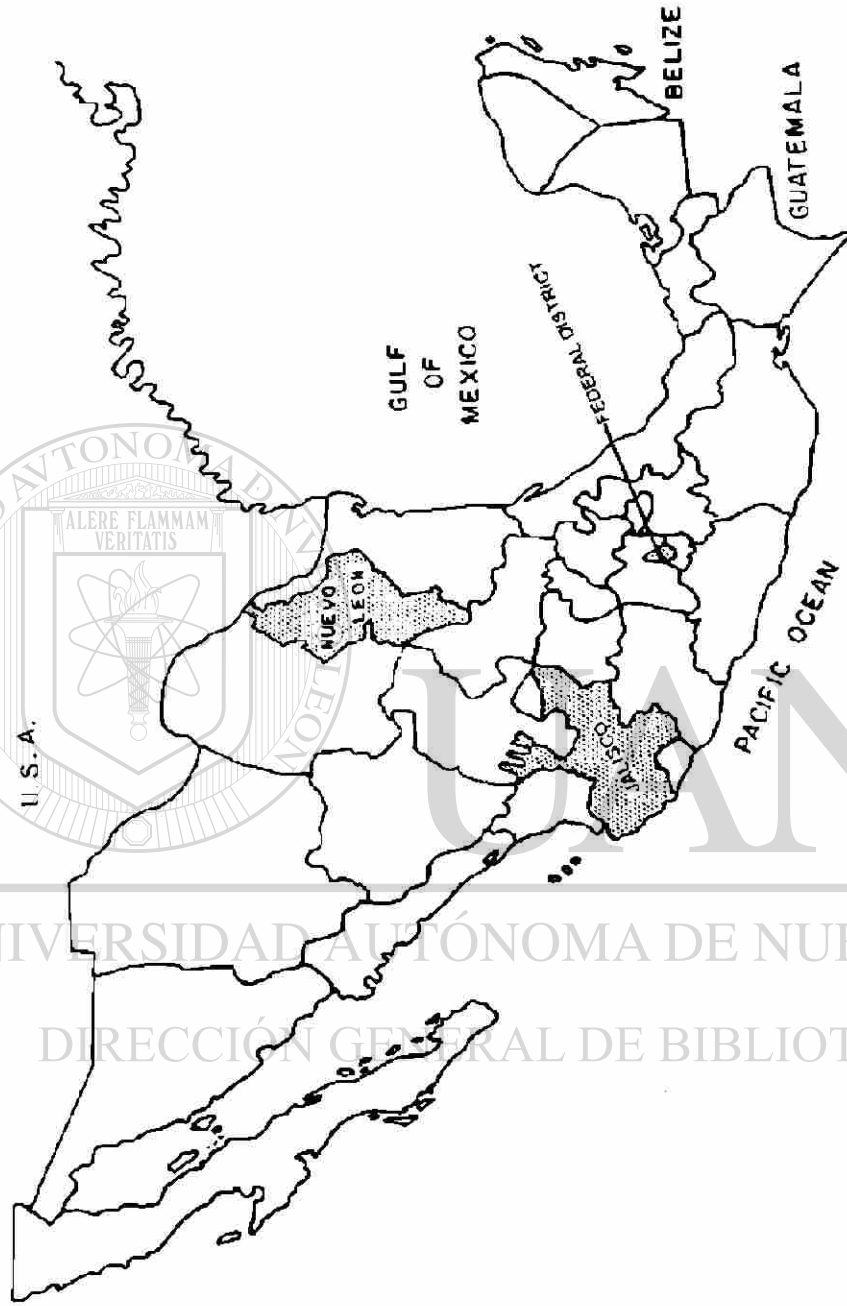


Figura 2.1. Localización de los Estados de Nuevo León, Jalisco y Distrito Federal en México donde las poblaciones Mestizas fueron tipificadas para los marcadores D1S80 y H1A-DQA1.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio fue el conocer si la estructura genética de estas tres poblaciones Mestizas de México son similares en términos de los polimorfismos de DNA. En caso de ser similares esto sería de gran ayuda en los futuros estudios de diseño de caso-control en búsqueda de la asociación de marcadores de DNA con enfermedades que afectan a las poblaciones Mexicanas.

Los objetivos particulares de este estudio fueron:

1. Estimar la contribución de las poblaciones ancestrales (Española, Amerindia y Africana) en tres poblaciones Mestizas utilizando dos polimorfismos del DNA nuclear, D1S80 y HLA-DQA1.
2. Comparar las proporciones de mezcla génica de estas tres poblaciones Mestizas.
3. Comparar las estimaciones de mezcla génica de la población de Nuevo León utilizando los dos marcadores de DNA con respecto a la misma población, pero utilizando cinco marcadores de grupos sanguíneos (previamente reportados por Cerda-Flores y Cols. 1994).

MATERIALES Y METODOS

Descripción de la muestra. La información genética de estas poblaciones fue colectada como parte de una investigación mas amplia de la estructura genética de las poblaciones Mestizas Mexicanas.

La muestra de Nuevo León consistió de 103 participantes, los cuales fueron entrevistados en la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de 1997 a 1998. En la muestra de Jalisco, 129 individuos fueron tamizados para D1S80 y 63 para HLA-DQA1. Ellos eran personas no emparentadas que vivían en el Area Metropolitana de Guadalajara. Todos ellos tenían padres y abuelos Mestizos Mexicanos y eran originarios principalmente del Estado de Jalisco. Los individuos muestreados de Jalisco fueron miembros familiares de empleados del IMSS o estudiantes voluntarios de la Universidad de Guadalajara. La muestra del Distrito Federal fue seleccionada con propósitos comparativos, que consistió de la información de frecuencias alélicas para D1S80 y HLA-DQA1 recopilada por Peterson y Cols. (2000).

Preparación de la muestra. El DNA fue extraído de leucocitos de sangre periférica. Para el Estado de Nuevo León, el DNA fue obtenido mediante el método de lisis con Tritón X-100 y SDS, se purificó mediante la extracción con fenol-cloroformo, y se precipitó con etanol (Martínez-Soriano y Cols. 1993). Para la muestra de Jalisco, se extrajo el DNA mediante el método descrito por Miller y Cols. (1988).

Tipificación de D1S80. El DNA extraído fue amplificado mediante la técnica de PCR utilizando los primers D1S80 descritos por Kasai y Cols. (1990). Después de la electroforesis, el DNA fragmentado fue visualizado mediante la tinción de bromuro de etidio y el gel fue escaneado con el sistema Gel Doc 1000 (Bio Rad Laboratories, Hercules, CA). Los perfiles de las bandas escaneadas de cada individuo fueron evaluadas mediante la comparación con las escaleras alélicas comerciales para D1S80 (PE Applied Biosystems, Branchburg, NJ).

Tipificación del HLA-DQA1. Para la tipificación del marcador HLA-DQA1 fue utilizada una sola amplificación con PCR con primers de DQA biotinizados y el procedimiento de dot-blot reverse con sondas de oligonucleótido inmovilizadas. El protocolo fue llevado a cabo de acuerdo a la amplificación de PCR AmpliType HLA-DQA1 y la tipificación con el Kit incluido (Perkin Elmer Applied Biosystem, Branchburg, NJ). Las muestras de Jalisco fueron tipificadas para HLA-DQA1 mediante el método de Olerup y Cols. (1993), cuyos resultados son comparables con el kit comercial utilizado en las muestras de Nuevo León. ®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

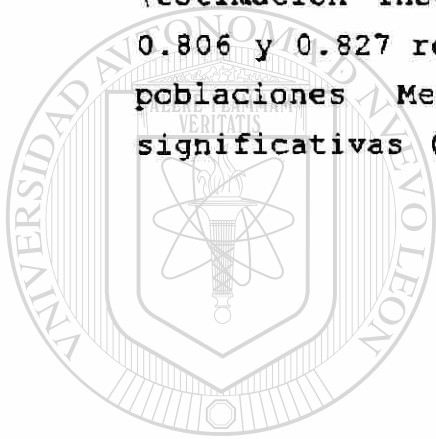
Métodos Estadísticos. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo en cinco partes:

1. Las frecuencias alélicas fueron estimadas por el método de conteo genético (Li 1976), debido a que los sistemas codominantes D1S80 y HLA-DQA1 al ser utilizado este método no se requieren suposiciones acerca de la estructura dentro de las poblaciones muestreadas.

2. La posible desviación de las expectativas de Hardy-Weinberg (HWE) fueron analizadas por tres métodos: la prueba de homocigocidad (Nei 1978), la prueba de razón de verosimilitud (Weir 1992) y la prueba exacta (Guo y Thomson 1992).
3. La prueba exacta (tabla de contingencia RxC) fue utilizada para analizar la homogeneidad de las tres poblaciones Mestizas para los loci D1S80 y HLA-DQA1 por separado (Roff y Bentzen, 1989).
4. El porcentaje de contribución de las poblaciones antecesoras para las poblaciones Mestizas fue calculado por el método de Elston (1971), cada población Mestiza fue considerada el producto de la mezcla de tres poblaciones: Española (Centro de España), Amerindia (Pueblo) y Africana (Zimbabwe). La información de la frecuencia de las tres poblaciones antecesoras fue obtenida de la compilación de Peterson y Cols. (2000) para Africa, para los Amerindios de Scholl y Cols. (1995) y para España de la página de Internet http://www.ertzaintza.net/adn_nuclear.
5. Las proporciones de mezcla génica de las poblaciones Mestizas fueron comparadas utilizando la prueba de heterogeneidad de Chi-cuadrada de Rao (1973).

RESULTADOS

Distribuciones de las frecuencias alélicas y comparación entre las tres poblaciones: La distribución de las frecuencias alélicas para D1S80 para las tres poblaciones Mestizas Mexicanas y las tres poblaciones antecesoras se muestran en la Tabla 2.1. Los alelos más frecuentes en las poblaciones de Nuevo León, Jalisco y Distrito Federal fueron los alelos 18 y 24. Para Nuevo León, Jalisco y Distrito Federal los valores de diversidad alélica (estimación insesgada de heterocigocidad) fueron 0.878, 0.806 y 0.827 respectivamente. Al ser comparadas las tres poblaciones Mestizas no se detectaron diferencias significativas ($G = 65.40$, $P > 0.05$).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 2.1. Frecuencias alélicas del alelo D1S80 (%) en tres poblaciones Mestizas Mexicanas y en tres poblaciones antecesoras.

Alelo	Nuevo León	Jalisco	Distrito Federal ^a	España ^b	Amerindios ^c	Africa ^a
N	103	129	230	297	93	101
15	0.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	3.88	1.16	2.20	0.00	10.80	0.50
17	0.48	0.39	0.40	0.34	0.50	1.49
18	23.30	30.21	32.20	22.90	25.30	2.48
19	3.40	0.39	0.40	0.50	2.70	0.00
20	0.98	1.55	0.90	2.19	0.50	0.50
21	2.43	2.33	1.30	3.20	1.10	14.36
22	1.46	1.55	1.50	5.39	1.10	12.87
23	1.94	0.39	0.20	1.18	0.00	2.97
24	20.39	29.07	20.90	35.86	30.10	12.87
25	7.77	6.98	9.60	5.05	9.10	5.94
26	2.43	1.16	1.70	1.51	0.00	0.00
27	0.00	0.78	1.50	0.67	2.20	2.97
28	7.28	5.04	5.90	6.73	2.70	11.88
29	5.34	2.33	5.00	6.23	0.00	1.98
30	7.28	5.81	8.00	0.67	5.90	1.49
31	7.77	9.30	6.30	4.38	7.50	6.93
32	0.97	0.39	0.70	0.17	0.00	1.49
33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
34	0.97	0.00	0.70	0.50	0.00	16.34
35	0.00	0.39	0.20	0.34	0.00	0.00
36	0.48	0.39	0.20	0.50	0.00	0.00
37	0.00	0.39	0.00	0.67	0.00	0.00
38	0.00	0.00	0.20	0.17	0.00	0.00
39	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.00
>=40	0.48	0.00	0.00	0.67	0.50	2.97
H	0.878	0.806	0.827	0.802	0.818	0.897

Nuevo León vs Jalisco vs Distrito Federal:

G = 65.40, P >0.05

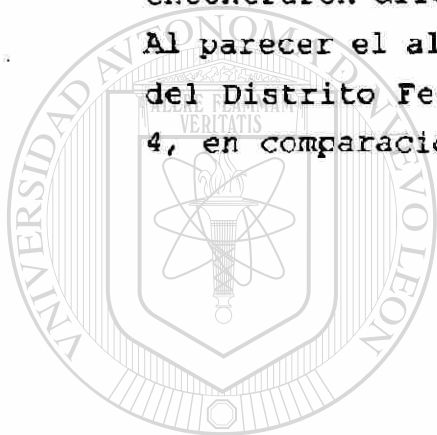
H: Diversidad genética (estimador insesgado de heterocigosidad)

^a Peterson et al. 2000

^b http://www.ertzaintza.net/adn_nuclear

^c Scholl et al. 1995.

La distribución de las frecuencias alélicas para HLA-DQA1 para las tres poblaciones Mestizas Mexicanas y las tres poblaciones antecesoras se muestran en la Tabla 2.2. Hubo un total de 6 alelos. El alelo más frecuente fue el 4 en las tres poblaciones mestizas. Para Nuevo León, Jalisco y Distrito Federal los valores de diversidad alélica fueron 0.759, 0.737 y 0.691 respectivamente. Al ser comparadas las poblaciones de Nuevo León y Jalisco, no se encontraron diferencias significativas ($G = 9.14$, $P=0.11$), pero al ser ambas comparadas con la muestra del Distrito Federal se encontraron diferencias significativas ($G= 29.16$, $P<0.05$). Al parecer el alelo 2 es el menos frecuente en la población del Distrito Federal, con un incremento en los alelos 3 y 4, en comparación con las otras dos poblaciones.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 2.2. Frecuencias alélicas de HLA-DQA1 (%) en tres poblaciones Mestizas Mexicanas y en tres poblaciones antecesoras.

Alelo	Nuevo León	Jalisco	Distrito Federal ^a	España ^b	Amerindia ^c	Africa ^a
N	103	63	230	360	103	106
I.1	8.74	15.87	8.50	13.06	5.80	13.21
1.2	10.19	3.97	8.50	16.25	1.00	34.43
1.3	4.85	3.18	2.00	7.64	1.50	12.26
2	13.59	10.32	5.40	16.11	3.40	5.66
3	24.27	26.98	31.70	15.56	12.10	4.72
4	38.35	39.68	43.90	31.39	76.20	29.72
H	0.759	0.737	0.691	0.603	0.402	0.759

Nuevo León vs Jalisco vs Distrito Federal: $G = 29.16$, $P < 0.05$

Nuevo León vs Jalisco: $G = 9.14$, $P > 0.05$

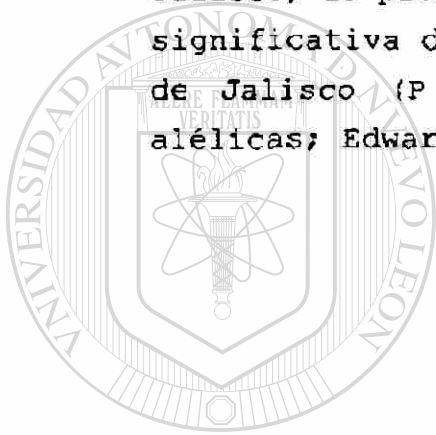
H: Diversidad genética (estimador insesgado de heterocigosidad)

^a Peterson et al. 2000

^b http://www.ertzaintza.net/adn_nuclear

^c Scholl et al. 1995.

Frecuencias genotípicas con las expectativas de Hardy-Weinberg: Se resumen los resultados de las pruebas de HWE en la Tabla 2.3. Las distribuciones de las frecuencias genotípicas para el loci D1S80 no se desvía de HWE basado en cualquiera de las tres pruebas estadísticas (prueba de homogeneidad, prueba de la razón de verosimilitud y la prueba exacta) en las poblaciones de Nuevo León y Jalisco. Por el contrario, las pruebas de razón de verosimilitud y exacta no se desvían de HWE para las frecuencias genotípicas de HLA-DQA1 en las muestras de Nuevo León y Jalisco, la prueba de homocigosidad reveló una deficiencia significativa de los homocigotos observados en la muestra de Jalisco ($P = 0.019$, basados en 1000 permutaciones alélicas; Edwards y Cols. 1992).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Table 2.3. Pruebas de HWE para los loci DIS80 y HLA-DQA1.

Locí	Nuevo León (N = 103)	Jalisco (N = 129)
DIS80		
Homocigiosidad Observada	13.59%	24.81%
Homocigiosidad Esperada ^a	12.20%	19.42%
Prueba de homocigiosidad ^b	0.758	0.101
Prueba LRT ^b	0.568	0.772
Prueba Exacta ^b	0.509	0.668
HLA-DQA1		
Homocigiosidad Observada	19.42%	14.29%
Homocigiosidad Esperada ^a	24.12%	26.29%
Prueba de homocigiosidad ^b	0.238	0.019
Prueba LRT ^b	0.495	0.252
Prueba Exacta ^b	0.541	0.534

^a La homocigiosidad esperada es un estimador insesgado.

^b Estos valores son los valores probabilísticos.

LRT: Prueba de razón de verosimilitud.

Análisis de mezcla génica. La Tabla 2.4 presenta los valores estimados de las proporciones de mezcla génica con sus respectivos errores estándar para ambos loci. El modelo trihíbrido de mezcla génica (consistente de la contribución genética de España, Amerindia y Africana) se ajustó para las tres poblaciones Mestizas. Las proporciones de mezcla génica estimadas fueron: 60%, 37% y 3% para Nuevo León; 56%, 43% y 1% para Jalisco y 50%, 49% y 1% para el Distrito Federal, con respecto a los pools génicos ancestrales, no mostrando diferencias significativas al ser analizadas por el estadístico de heterogeneidad Chi-cuadrada, como se observa en el último renglón de la Tabla 2.4. Sin embargo, la proporción de genes Amerindios parece ser algo más grande en los Estados de Jalisco y el Distrito Federal con respecto a Nuevo León, con una disminución de la contribución Africana en su pool génico. La población de Nuevo León mostró las mismas contribuciones ancestrales con las poblaciones del Noreste utilizando marcadores de DNA nuclear o marcadores de grupos sanguíneos (el estadístico de heterogeneidad de Chi-cuadrada fue 0.002, $P > 0.05$).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 2.4. Contribución de las poblaciones antecesoras Española, Amerindia y Africana (%) para las tres poblaciones Mestizas Mexicanas.

Población	Española	Amerindia	Africana
Nuevo León ^a	59.03 ± 2.01	31.03 ± 1.82	9.94 ± 0.89
Nuevo León ^b	59.99 ± 5.94	36.99 ± 5.05	3.02 ± 2.76
Jalisco ^b	56.03 ± 7.87	43.03 ± 6.43	0.94 ± 4.39
DF ^b	50.03 ± 4.11	49.03 ± 3.76	0.94 ± 1.27
χ^2	2.02	3.71	0.46

^a Resultados previos. Los cálculos están hechos con cinco loci polimórficos (ABO, Rh, MNSS, Duffy, Kidd); Cerda-Flores y Cols. 1994.

^b Los cálculos están hechos con D1S80 y HLA-DQA1.
DF: Distrito Federal

DISCUSION

La contribución de las poblaciones ancestrales de España, Amerindia y Africana en las tres poblaciones Mestizas Mexicanas son similares utilizando los dos marcadores de DNA D1S80 y HLA-DQA1. En los Estados Unidos, similares contribuciones han sido reportadas en México Americanos en los Estados de Texas y Arizona, pero sin utilizar los polimorfismos de DNA nuclear (Hanis y Cols. 1991; Cerda-Flores y Cols. 1992; Long y Cols. 1991; Tseng y Cols. 1998; Williams y Cols. 1992).

De los dos sistemas analizados, el locus D1S80 es más polimórfico que el HLA-DQA1, tanto en el número de alelos que segregan como también en la diversidad génica (heterocigosidad). En este sentido, la homogeneidad de las frecuencias alélicas del locus D1S80 a través de las tres muestras y una menor indicación de heterogeneidad para el locus HLA-DQA1 es en realidad insignificante. Chakraborty y Li (1992) han mostrado que la heterogeneidad de las frecuencias alélicas a través de las poblaciones se relacionan inversamente con la heterocigosidad dentro de la población. Los datos presentados en este estudio, siguen exactamente esta predicción, ya que la proporción de diversidad génica (G_{ST}) en estas poblaciones mestizas fue de 3.14% para D1S80 y de 6.70% para HLA-DQA1.

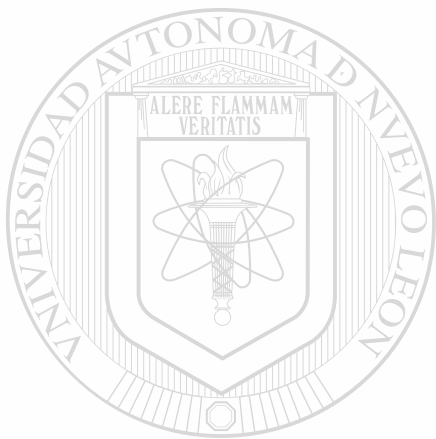
Las frecuencias alélicas reportadas en un reciente estudio de Rangel-Villalobos y Cols. (1999) para D1S80 en otra muestra de la población Mestiza de Jalisco no es diferente a la de este estudio ($p > 0.05$). A pesar de que la historia residencial de las 173 individuos muestreados no se mencionan en ese estudio, las mediciones del

polimorfismo de D1S80 son muy similares a las de la muestra de Jalisco del presente estudio (por ejemplo, 19 alelos son segregados, se tiene una diversidad génica del 83.6% y el estadístico de heterogeneidad para la diferencia de frecuencias génicas fue de 17.89, $P = 0.63$).

La población de Nuevo León mostró similares contribuciones ancestrales con las poblaciones del Noreste, utilizando tanto marcadores de DNA nuclear o marcadores de grupos sanguíneos. Este hallazgo indica que los marcadores D1S80 y HLA-DQA1 son también de utilidad para medir mezcla génica.

En conclusión, los Mestizos de los Estados de Nuevo León, Jalisco y el Distrito Federal tienen similares contribuciones ancestrales, al menos con respecto a los dos marcadores nucleares aquí medidos. Si este resultado es mantenido con el uso de otros marcadores moleculares de DNA (por ejemplo los marcadores STRs u otros microsátélites), este hallazgo tendrá profundas implicaciones en los estudios de asociación de enfermedades con genes en las poblaciones Mestizas Mexicanas. La homogeneidad genética de las poblaciones Mestizas urbanas facilitará el muestreo tanto de individuos afectados y controles sin necesidad de detallar información sobre su historia residencial o historia de migración entre Estados, lo que conduce a la posibilidad de una fácil colecta de grandes series de casos-control. Obviamente el incremento en la tendencia de la contribución Africana en el pool génico de la región Noreste del país (a pesar de que no existieron diferencias significativas en el estudio) deberá ser analizado con un mayor conjunto de marcadores de DNA, que incluya loci que

muestren marcados cambios de las frecuencias alélicas en las poblaciones Africanas y no Africanas.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOGRAFIA

- Budowle B, Smerick JB, Keys KM, Moretti TR. 1997. United States population data on the multiplex short tandem repeat loci -HUMTH01, TPOX, and CSF1PO and the variable number of tandem repeat locus D1S80. *J. Forensic Sci.* 42:846-849.
- Censo, 2000. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2000. XII Censo general de población y vivienda. México, DF: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (<http://www.INEGI.gob.mx>).
- Cerda-Flores RM, Barton SA, Hanis CL, Chakraborty R. 1994. Genetic variation by birth cohorts in Mexican Americans of Starr County, Texas. *Am J Hum Biol* 6:669-674.
- Cerda-Flores RM, Dávila-Rodríguez MI. 2000. Natural fertility in northeastern México. Genetic structure by birthyear and birthplace. *Arch Med Res, México* 31:520-525.
- Cerda-Flores RM, Garza-Chapa R. 1988. Cambios en las frecuencias de incompatibilidad para ABO y Rh(D) en tres generaciones de la población del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. *Arch Med Res (México)* 19:79-89.
- Cerda-Flores RM, Garza-Chapa R. 1989. Variation in the gene frequencies of three generations of humans from Monterrey, Nuevo León, México. *Hum Biol* 61:249-261.
- Cerda-Flores RM, Kshatriya GK, Barton SA, Leal-Garza CH, Garza-Chapa R, Schull WJ, Chakraborty R. 1991. Genetic structure of the populations migrating from San Luis Potosi and Zacatecas to Nuevo León in México. *Hum Biol* 63:309-327.

- Cerda-Flores RM, Kshatriya GK, Bertin TK, Hewett-Emmett, Hanis CL, Chakraborty R. 1992. Gene diversity estimation of genetic admixture among Mexican-Americans of Starr County, Texas. *Ann Hum Biol* 19:347-360.
- Cerda-Flores RM, Ramírez-Fernández E, Garza-Chapa R. 1987. Genetic admixture and distances between populations from Monterrey, Nuevo León, México and their putative ancestral populations. *Hum Biol* 59:31-49.
- Chakraborty R. 1985. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. In: Ahuja YR, Neel JV, editors. *Genetic microdifferentiation: Human and other populations*. New Dehli: Indian Anthropological Association. pp 171-180.
- Chakraborty R, Fornage M, Guegue R, Boerwinkle E. 1991. Population genetics of hypervariable loci: Analysis of PCR based VNTR polymorphism within a population. In: Burke T, Dolf G, Jeffreys AJ, Woff R, editors. *DNA Fingerprinting: approaches and applications*. Berlin: Birkhauser Verlag. pp. 127-143.
- Chakraborty R, Jin L. 1992. Heterozygote deficiency, population substructure and their implications in DNA fingerprinting. *Hum Genet* 88:267-272. ®
- Chakraborty R, Smouse PE, Neel JV. 1988. Population amalgamation and genetic variation: Observations on artificially agglomerated tribal populations of Central and South America. *Am J Hum Genet* 43:709-725.
- Chakraborty R, Weiss KM. 1988. Admixture as a tool for finding linked genes and detecting that difference from allelic association between loci. *Proceedings of the Academy of Sciences, USA* 85:9119-9123.

- Crawford M, Lisker R, Perez-Briceño. 1976a. Genetic microdifferentiation of two transplanted Tlaxcaltecan populations. In: Crawford M, editor. The Tlaxcaltecan, prehistory, demography, morphology and genetics. Publications in Anthropology 7. Lawrence, Ks.: University of Kansas, 169-175.
- Crawford M, Workman PL, McLean, Lees FC. 1976b. Admixture estimates and selection in Tlaxcala. In: Crawford M, editor. The Tlaxcaltecan, Prehistory, Demography, morphology and genetics. Publications in Anthropology 7. Lawrence, Ks.: University of Kansas, 161-168.
- Edwards A, Hammond H, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R. 1992. Genetic variation at five trimeric and tetrameric repeat loci in four human population groups. Genomics 12:241-253.
- Elston R C. 1971. The estimation of admixture in racial hybrids. Ann Hum Genet 35:9-17.
- Garza-Chapa R. 1983. Genetic distances for ABO and Rh (D) blood groups in the state of Nuevo León, México. Soc Biol 30:24-31.
- Garza-Chapa R, Rojas-Alvarado MA, Cerda-Flores RM. 2000. Prevalence of NIDDM in Mexicans with paraphyletic and polyphyletic surnames. Am J Hum Biol 12:721-728. ®
- Guo SW, Thompson EA. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. Biometrics 48:361-372.
- Hanis CL, Hewett-Emmett D, Bertin TK, Schull WJ. 1991. Origins of U.S. Hispanics. Implications for diabetes. Diabetes Care 14:618-627.

- Kasai K, Nakamura Y, White R. 1990. Amplification of a variable number of tandem repeats (VNTR) locus (pMCT118) by the polymerase chain reaction (PCR) and its application to forensic science. *J Forensic Sci* 35:1196-1200.
- Kloosterman AD, Budowle B, Daselaar P. 1993. PCR-amplification and detection of the human D1S80 VNTR locus: Amplification conditions, population genetics, and application to forensic analysis. *Int J Leg Med* 105:257-264.
- Li CC. 1976. First course in population genetics. Pacific Grove, CA: The Boxwood Press.
- Lisker R. 1981. Estructura genética de la población Mexicana: Aspectos médicos y antropológicos. México: Salvat Mexicana de Ediciones.
- Lisker R, Babinsky V. 1986. Admixture estimates in nine Mexican Indian groups and five east coast localities. *Rev Invest Clin* 38:145-149.
- Lisker R, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V, De Rubens J, Armendares S, Buentello L. 1986. Gene frequencies and admixture estimates in a México City population. *Am J Phys Anthropol* 71:203-207.
- Lisker R, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V. 1988. Gene frequencies and admixture estimates in the state of Puebla, México. *Am J Phys Anthropol* 76:331-335.
- Lisker R, Ramirez E, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V. 1990. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican urban centers. *Hum Biol* 62:791-801.

- Long JC, Williams RC, McAuley JE, Medis R, Partel R, Tregellas WM, South SF, Rea AE, McCormick SB, Iwaniec U. 1991. Genetic variation in Arizona Mexican americans: estimation and interpretation of admixture proportions. *Am J Phys Anthropol* 84:141-157.
- Martinez-Soriano JP, Cab-Barrera EL, Tamez-González R, Leal-Klevezas DS. 1993. Detección de brucella abortus por medio de la reacción en cadena de la polimerasa. *Bioquímica* 72:10-16.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Nei M, Roychoudhury AK. 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 76:379-390.
- Olerup O, Aldener A, Fogdell A. 1993. HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens* 41:119-134.
- Perkin Elmer. 1995. AmpliType HLA-DQA1 PCR Amplification and Typing Kit Protocol.
- Peterson BL, Su B, Chakraborty R, Budowle B, Gaensslen RE. 2000. World population data for the HLA-DQA1, PM® and D1S80 loci least and most common profile frequencies for combinations of loci estimated following NRC II guidelines. *J Forensic Sci* 45:118-146.

Rangel-Villalobos H, Rivas F, Torres-Rodríguez M, Jaloma-Cruz AR, Gallegos-Arreola MPO, López-Satow J, Cantú JM, Figuera LE. 1999. Allele frequency distributions of six- Amp-FLPS (D1S80, APO-E, VWA, TH01, CSF1PO and HPRTB) in a Mexican population. *Forensic Sci Intl* 105:125-129.

Rao CR. 1973. *Linear statistical inference and its applications*, 2nd Ed. New York: John Wiley.

Roff DA, Bentzen P. 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Molec Biol Evol* 6:539-545.

Scholl W, Budowle B, Radecki K, Salvo M. 1995. Navajo, Pueblo, and Sioux population data on the loci HLA-DQA1, LDLR, GYPA, HBG, D7S8, Gc, and D1S80. *J Forensic Sci* 41:47-51.

Tiburcio V, Romero A, De Garay AL. 1978. Gene frequencies and racial intermixture in a Mestizo population from México City. *Ann Hum Biol* 5:131-138.

Tseng M, Williams RC, Maurer KR, Schanfield MS, Knowler WC, Everhart JE. 1998. Genetic admixture and gallbladder disease in Mexican Americans. *Am J Phys Anthropol* 106:361-371.

Weir BS. 1992. Independence of VNTR alleles defined by fixed bins. *Genetics* 130:873-887.

Williams RC, Knowler WC, Pettitt DJ, Long JC, Rokala DA, Polesky HF, Hackenberg RA, Steinberg AG, Bennett PH. 1992. The magnitude and origin of European-American admixture in the Gila River Indian Community of Arizona: a union of genetics and demography. *Am J Hum Genet* 51:101-110.

CAPITULO 3

AUSENCIA DEL LINEAGE EUROPEO Y AFRICANO EN MESTIZOS MEXICANOS A TRAVES DEL ESTUDIO DEL DNAmT

INTRODUCCION

Ha sido descrito que las poblaciones Mestizas de las regiones Metropolitanas de México derivan de Europeos (Españoles), Amerindios y Africanos (Lisker 1981). Sin embargo, parece ser que el flujo de genes por líneas masculina y femenina no es igual, ya que la historia del Mestizaje en México puede que no refleje con precisión la estimación de la proporción de mezcla génica al ser utilizados sólo los genes nucleares (Mesa y Cols. 2000; Chakraborty 1998; Carvajal-Carmona y Cols. 2000).

Utilizando análisis haplotípicos del DNAmT, en este estudio, mostramos que en las poblaciones Mestizas del Noreste de México el lineage materno de mezcla en los individuos es totalmente de origen Amerindio. Además, la homogeneidad geográfica de las frecuencias de los principales haplogrupos Amerindios, dentro de esta región del país, nos indica que las estructuras de mezcla genética fueron muy similares. Los datos presentados aquí muestran las grandes diferencias (hasta ahora reportadas) de las estimaciones de mezcla basados en marcadores del DNAmT y del DNA nuclear. Los Mestizos Mexicanos recibieron genes de las poblaciones Europeas y Africanas principalmente (si no completamente) de los lineages masculinos.

El Estado de Nuevo León, en el Noreste de México (incluye los Estados de Nuevo León, Coahuila, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas) tiene un área de 64,555 Km² y para el año 2000 una población de 3,826,240 habitantes (Figura 3.1). Es una población joven con 83.8% de la población menor a los 44 años de edad (Censo 2000). Aproximadamente el 82% de la población en el Estado reside en el Área metropolitana de Monterrey (AMM) que se localiza en la sección Centro-Oeste del Estado de Nuevo León (DEPD 1978). En 1960, Nuevo León tuvo 1,078,848 con casi 50% de esta población que había migrado al AMM, principalmente de los Estados de San Luis Potosí y Zacatecas (Montemayor-Hernández 1971; Cerda-Flores y Cols. 1987, 1989).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

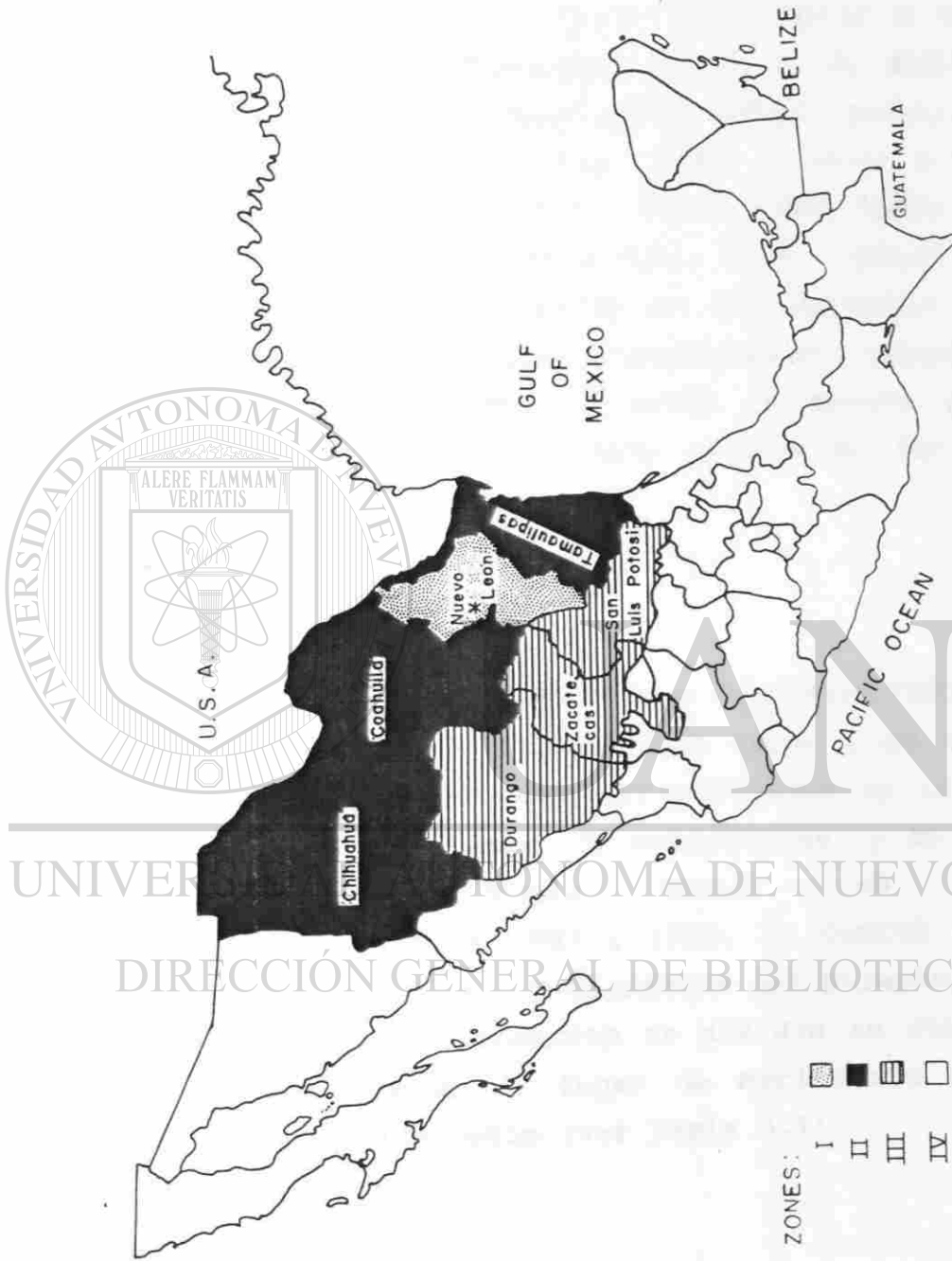


Figura 3.1. Localización del Estado de Nuevo León y las zonas de México donde la abuela materna nació.

Los estudios sobre la variación del DNAm humano ha proporcionado expectativas únicas dentro de la evolución humana (Denaro y Cols. 1981, Cann and Wilson 1983; Cann y Cols. 1987; Vigilant y Cols. 1991; Horai y Cols. 1995). Únicamente cinco haplogrupos (A, B, C, D, and X) han sido observados en Nativos Americanos (Schurr y Cols. 1990; Ward y Cols. 1991; Horai y Cols. 1993; Torroni y Cols. 1993, 1994a,b; Merriwether y Cols. 1994, 1995, 1996; Merriwether and Ferrell 1996; Easton y Cols. 1996). Estos haplogrupos están generalmente ausentes en los Europeos y Africanos (Wallace 1995). Estas observaciones proporcionan la oportunidad de estimar el grado de mezcla genética que ocurrió a través de la línea materna en las poblaciones recientemente Mestizas.

MATERIAL Y METODOS

Se colectaron en tubos que contenían EDTA muestras de sangre venosa de 143 individuos sanos y no emparentados. Los participantes fueron entrevistados en la Universidad Autónoma de Nuevo León (74 estudiantes) y en el Instituto Mexicano del Seguro Social (29 trabajadores administrativos) de 1997 a 1998. El Comité de Ética del Centro de Investigación Biomédica del Noreste, IMSS aprobó el estudio. La información se dividió en cuatro zonas de México de acuerdo al lugar de nacimiento de la abuela materna de los sujetos (ver Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Distribución de las frecuencias de los cuatro principales haplogrupos de origen Amerindio (A, B, C y D) agrupadas de acuerdo al lugar de nacimiento de la abuela materna.

Haplogrupos del DNAMt	Lugar de nacimiento de la abuela materna				Total (%)
	I	II	III	IV	
A	19	11	16	11	57 (39.86)
B	0	4	0	2	6 (4.20)
C	18	11	15	8	52 (36.36)
D	7	6	11	4	28 (19.58)
Total	44	32	42	25	143

Zona I. Estado de Nuevo León

Zona II. Estados de Chihuahua, Coahuila y Tamaulipas

Zona III. Estados de Durango, Zacatecas y San Luis Potosí

Zona IV. Todos los Estados restantes de México

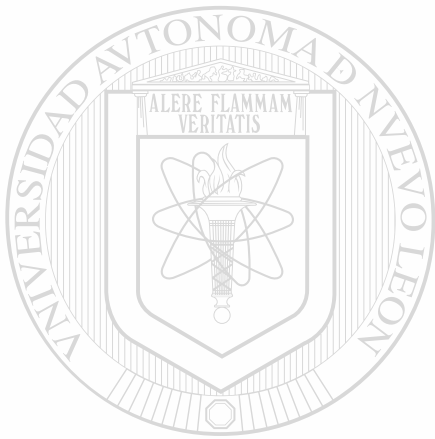
G (prueba de heterogeneidad, zonas I-IV) = 13.60 ($p = 0.179$ con 10,000 repeticiones de permutaciones)

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 3.1 se muestra la distribución de las frecuencias de los haplotipos del DNAm_t, por zona de origen. Claramente puede observarse que el 100% de los haplotipos del DNAm_t fueron de origen Amerindio (A = 39.86%, B = 4.20%, C = 36.36% y D = 19.58%). El hecho de haber encontrado un origen Amerindio de los haplotipos del DNAm_t es aparentemente contradictorio a las estimaciones de mestizaje de la población de Nuevo León (60% Española, 37% Amerindia y 3% Africana), utilizando el modelo trihíbrido para el mismo conjunto de poblaciones y microsatélites del DNA nuclear (Cerdeña-Flores y Cols. 2001). Esta observación es indicativo del pasado apareamiento direccional entre mujeres Amerindias y hombres Europeos y/o Africanos. La diferencia en los niveles de estimación de Mestizaje entre las estimaciones del DNAm_t derivado por la línea materna y las estimaciones nucleares derivadas bi-parentalmente en este estudio son demasiado grandes (Mesa y Cols. 2000; Carvajal-Carmona y Cols. 2000; Merriwether y Cols. 1997). Las estimaciones de mezcla, basadas en los haplogrupos del DNAm_t de las regiones fronterizas de las ciudades de Juárez y Ojinaga en el Estado de Chihuahua, no siguen las líneas maternas de Europeos o Africanos en el proceso de mestizaje (Green y Cols. 2000).

Además, las distribuciones de las frecuencias de los haplogrupos en las cuatro zonas (Tabla 3.1) parecen ser homogéneas (tabla de contingencia RxC $\chi^2 = 12.07$, $p = 0.213$, obtenida a través de 10,000 repeticiones de permutaciones; Roff y Bentzen 1989). Esto es consistente con las observaciones para genes nucleares (Cerdeña-Flores y Cols.

1987), lo que indica la homogeneidad de las estructuras genéticas de las poblaciones Mestizas de la región Noroeste de México.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOGRAFIA

Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 325:31-36.

Cann RL, Wilson AC. 1983. Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics* 104:699-711.

Carvajal-Carmona LG, Soto ID, Pineda N, Ortíz-Barrientos D, Duque C, Ospina-Duque J, McCarthy M, Montoya P, Alvarez VM, Bedoya G, Ruiz-Linares A. 2000. Strong Amerind/White sex bias and possible Sephardic contribution among the founders of a population in Northwest Colombia. *Am J Hum Genet* 67:1287-1295.

Censo. 2000. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2000. XII Censo General de Población y Vivienda. México, DF: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (<http://www.inegi.gob.mx>).

Cerda-Flores RM, Garza-Chapa R. 1989. Variation in the gene frequencies of three generations of human from Monterrey, Nuevo León, México. *Hum Biol* 61:249-261.

~~Cerda-Flores RM, Ramírez-Fernández E, Garza-Chapa R. 1987. Genetic admixture and distances between populations from Monterrey, Nuevo León, México and their putative ancestral populations. *Hum Biol* 59:31-49.~~

Cerda-Flores RM, Villalobos-Torres MC, Barrera-Saldaña HA, Cortés-Prieto LM, Barajas LO, Rivas F, Carracedo A, Zhong Y, Barton SA, Chakraborty. 2001. Genetic admixture in three Mexican Mestizo populations based on D1S80 and HLA-DQA1 loci. *Am J Hum Biol* (submitted).

Chakraborty R. 1998. Molecular evidence of directional mating for gene migration in human populations. XVIIIth Intl. Congress of Genetics Abstracts, Beijing, China, August 10-15, 1998, p. 102.

- Denaro M, Blanc H, Johnson MJ, Chen KH, Wilmsen E, Cavalli-Sforza LL, Wallace DC. 1981. Ethnic variation in HpaI endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:5768-5772.
- DEPD. 1978. Dirección de Estadística y Procesamiento de Datos del Gobierno de Nuevo León. Cifras de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México.
- Easton, RD, Merriwether DA, Crews DE, Ferrell RE. 1996. mtDNA variation in the Yanomani: Evidence for additional New World founding lineages. *Am J Hum Genet* 59:213-115.
- Green LD, Derr JN, Knight A. 2000. mtDNA affinities of the peoples of North-Central México. *Am J Hum Genet* 66:989-998
- Horai S, Hayasaka K, Kondo R, Tsugane K, Takahata N. 1995. Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:532-536.
- Horai S, Kondo R, Nakagawa-Hattori Y, Hayashi S, Sonoda S, Tajima K. 1993. Peopling of the Americans, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol Biol Evol* 10:23-47.
- Lisker R. 1981. Estructura genética de la población Mexicana: Aspectos médicos y antropológicos. Salvat Mexicana de Ediciones, México.
- Merriwether DA, Ferrell RE. 1996. The four founding lineage hypothesis for the New World: A critical reevaluation. *Mol*
- Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE. 1994. Genetic variation in the New World: Ancient teeth, bone, and tissue as sources of DNA. *Experientia* 50:592-601.

Merriwether DA, Hall WW, Vahlne A, Ferrell RE. 1996. mtDNA variation indicates Mongolia may have been the source for the founding populations for the New World. *Am J Hum Genet* 59:204-212.

Merriwether DA, Huston S, Iyengar S, Hamman R, Norris JM, Shetterly SM, Kamboh MI, Ferrell RE. 1997. Mitochondrial versus nuclear admixture estimates demonstrate a past history of directional mating. *Am J Phys Anthro* 102:153-159.

Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE. 1995. Distribution of the four founding lineages haplotypes in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *Am J Phys Anthro* 98:411-430.

Mesa NR, Mondragón MC, Soto ID, Parra MV, Duque C, Ortiz-Barrientos, García LF, Velez ID, Bravo ML, Múnera JG, Bedoya G, Bortolina M-C, Ruiz-Linarea A. 2000. Autosomal, mtDNA, and Y-chromosome diversity in Amerinds: Pre-and post Columbian patterns of gene flow in South America. *Am J Hum Genet* 67:1277-1286.

Montemayor-Hernández A. 1971. *Historia de Monterrey*. Asociación de Editores de Monterrey, AC, México.

Roff DA, Bentzen P. 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Molec Biol Evol* 6:539-545.

Schurr TG, Ballinger SW, Gan Y-Y, Hodge JA, Merriwether DA, Lawrence DN, Knowler WC, Weiss KM, Wallace DC. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet* 46:613-623.

Torrioni A, Chen Y-S, Semino O, Santachiara-Beneceretti AS, Scott CR, Lott MT, Winter M, Wallace DC. 1994a. mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four native American populations from southern México. *Am J Hum Genet* 54:303-318.

Torrioni A, Neel JV, Barrantes R, Schurr TG, Wallace DC. 1994b. A mtDNA 'clock' for the Amerinds and its implication for timing their entry into North America. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1158-1162.

Torrioni A, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel JV, Larsen M, Smith SG, Vullo CM, Wallace DC. 1993. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mitochondrial DNAs. *Am J Hum Genet* 53:563-590.

Vigilant L, Stoneking M, Harpending H, Hawkes K. 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science* 253:1503-1507.

Wallace DC. 1995. Mitochondrial DNA variation in human evolution, degenerative disease and aging. *Am J Hum Genet* 57:201-223.

Ward RH, Frazier EL, Dew-Jager K, Pääbo S. 1991. Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proc Nat Acad Sci USA* 88:8720-8724.

CAPITULO 4

ESTIMACION DE MEZCLA GENICA EN POBLACION DEL NORESTE DE MEXICO UTILIZANDO 13 STRs

RESUMEN

Los polimorfismos tetraméricos repetitivos cortos en tandem (STR) son ampliamente utilizados en genética de poblaciones, evolución molecular, mapeo cromosómico y análisis de ligamiento, pruebas de paternidad, análisis forense y aplicaciones médicas. Este trabajo proporciona 1) las distribuciones alélicas de 13 loci STRs (D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, TH01 y D16S539) en 143 Mestizos del Noreste de México, los que fueron amplificados mediante la PCR utilizando un kit comercial y posteriormente tipificados utilizando electroforesis capilar (PAGE), 2) el cálculo de la contribución de las poblaciones ancestrales y 3) una comparación de la mezcla genética de esta población utilizando 10 STRs con el estudio previamente reportado, donde se utilizaron los loci moleculares D1S80 y HLA-DQA1. Las distribuciones genotípicas de los 13 STRs estuvieron de acuerdo con las expectativas de Hardy-Weinberg (HWE). Con las frecuencias obtenidas, las mediciones de mezcla génica se realizaron mediante el método de máxima verosimilitud, para los Españoles, Amerindios y Africanos con las siguientes proporciones: 55%, 40% y 5%, respectivamente. Utilizando 10 STRs esta población mostró similares contribuciones ancestrales a las encontradas con los mismos 10 STRs en Hispanos de los EU (54%, 41% y 5%) y con la misma población estudiada previamente con los marcadores D1S80 y HLA-DQA1 (60%, 37% y 3%, respectivamente). En

conclusión, esta población Mestiza Mexicana es aceptable para la realización de estudios evolutivos y los marcadores analizados serán de gran utilidad en los campos anteriormente mencionados.

INTRODUCCION

Las poblaciones Mestizas Mexicanas derivan de tres poblaciones antecesoras: Europea (Española), Amerindia y Africana (Lisker, 1981). La información de grupos sanguíneos, proteínas séricas, como también los marcadores de DNA, D1S80 y HLA-DQA1, apoyan la etnohistoria de las poblaciones Mestizas Mexicanas (Lisker y Babinsky 1986, Cerda-Flores y Cols., 1991, 2001; Crawford 1976). La contribución de las poblaciones antecesoras en las poblaciones Mestizas en México, sirven como un excelente ejemplo para examinar la validez de las suposiciones de las asociaciones aleatorias de los alelos dentro y entre los loci que son utilizados en el estudio del DNA forense. Aunado a lo anterior, la caracterización de las distribuciones de las frecuencias alélicas en tales poblaciones Mexicanas habilita la comparación de estas poblaciones con aquellas poblaciones en los Estados Unidos, clasificados como Hispanos o Méxicoamericanos (Edwards y Cols. 1992, Budowle y Cols. 1999).

OBJETIVOS

Los propósitos de este estudio en 143 Mestizos Mexicanos fueron:

1. A partir de las distribuciones alélicas y genotípicas de 13 STRs (D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, TH01, y D16S539) realizar un resumen estadístico (cálculo de la heterocigosidad, probabilidad de exclusión y poder de discriminación) en esta población Mestiza Mexicana. Cabe señalar que estos 13 STRs son utilizados por el sistema forense en los Estados Unidos llamado CODIS (The FBI national DNA identification index: Combined DNA Index System).

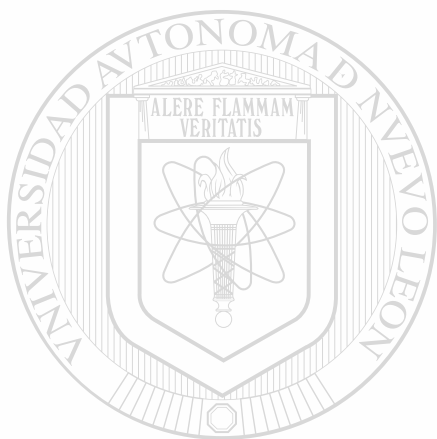
2. Estimar las contribuciones relativas de las poblaciones antecesoras Europea, Amerindia y Africana en esta región.

3. Validar la robustez de las suposiciones de independencia alélica dentro y a través de los loci en esta población Mestiza.

4. Examinar la asignación de las Recomendaciones 4.1 y 4.2 del Comité del Consejo Nacional de Investigación (siglas en inglés, NRC, 1996) para interpretar el poder estadístico de la concordancia del DNA en los análisis de casos forenses. **NOTA:** Ver el Apéndice A para leer estas Recomendaciones.

El Estado de Nuevo León, en el Noreste de México (el cuál incluye además los Estados de Nuevo León, Coahuila, Tamaulipas, San Luis Potosí y Zacatecas) tiene una área de 64,555 Km² y en el 2000 tuvo una población de más de 3.8 millones de habitantes (Figura 4.1). Es una población joven, el 83.8% son menores a los 44 años de edad (Censo,

2000). Aproximadamente 82% de la población del Estado reside en el Area metropolitana de Monterrey (AMM), en la sección central occidental del Estado de Nuevo León (DEPD, 1978). En 1960, Nuevo León tuvo 1,078,848 habitantes con casi 50% de esta población que había migrado al AMM, principalmente de los Estados adyacentes de San Luis Potosí y Zacatecas (Montemayor-Hernandez, 1971).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

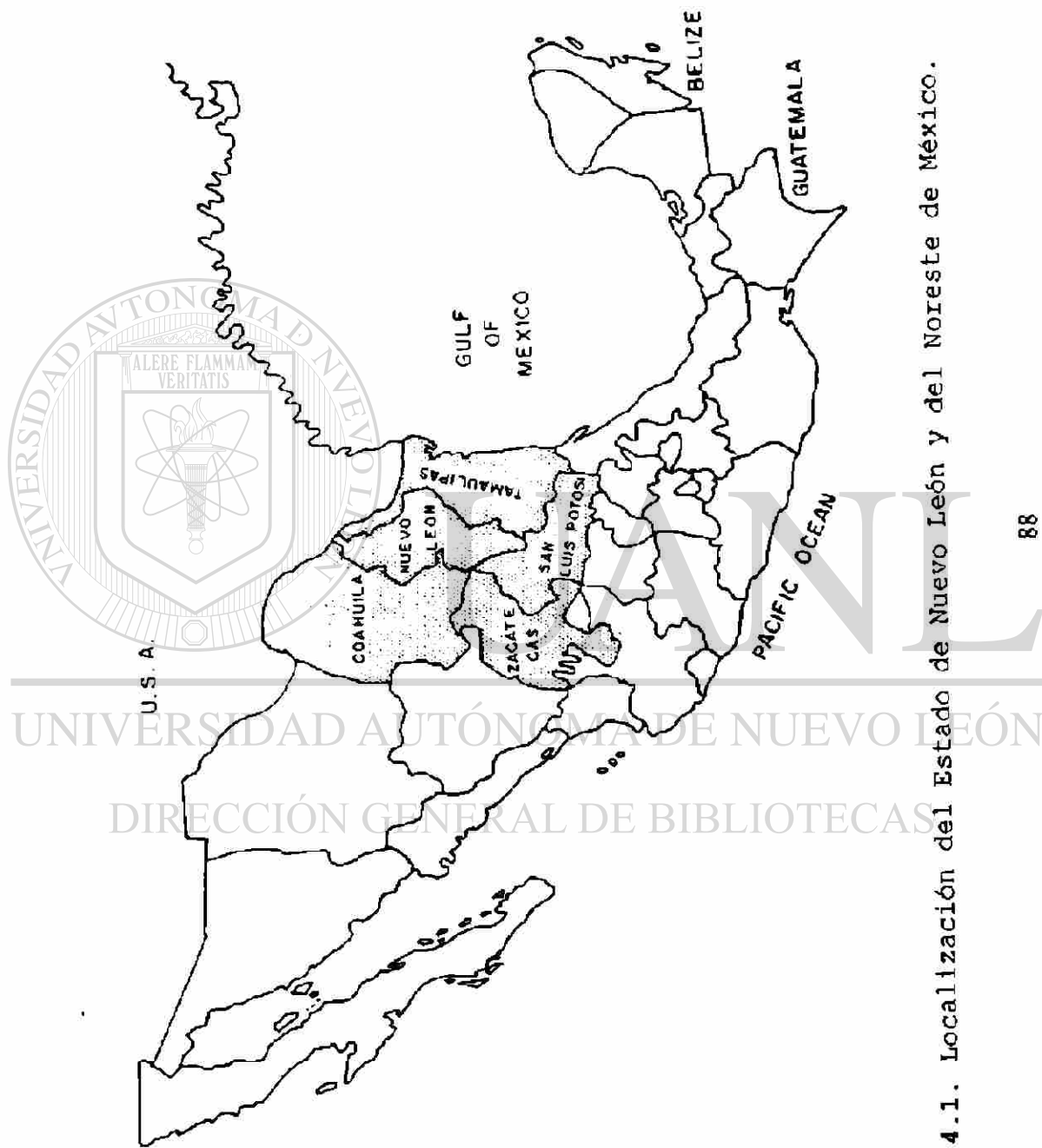


Figura 4.1. Localización del Estado de Nuevo León y del Noreste de México.

La estimación de mezcla basada en los datos de grupos sanguíneos nos indica que las poblaciones del Noreste de México son similares en términos de la contribución de los genes Españoles (60%), Amerindios (37%) y Africanos (3%). Más del 96% de la diversidad genética total (G_{ST}) puede ser atribuida a la variación individual dentro de las poblaciones definida por los parámetros lugar y fecha de nacimiento. No existe asociación no aleatoria de los alelos entre los marcadores genéticos a pesar del origen Mestizo de esta población (Cerdeña-Flores y Cols. 1991, 2001). Sin embargo, se desconoce si la reciente introducción de los marcadores moleculares de DNA revelen el mismo panorama.

La introducción en muchos países en el mundo de los 13 loci CODIS (Combined DNA Index System) ha dado como resultado la compilación de la información de las frecuencias alélicas en el Internet (<http://www.uni-Duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/>). Como consecuencia de esta introducción, al ser realizados los estudios genotípicos de estos 13 marcadores en las poblaciones apropiadas (estas bases de datos son de dominio público), pueden ser de gran utilidad para resolver una gran cantidad de problemas con respecto al campo de la medicina forense, así como también en el análisis de la estructura poblacional en los estudios evolutivos. Los propósitos dirigidos en esta tesis muestran lo dicho con anterioridad y además se presenta por primera vez la información del genotipo multilocus de 143 individuos Mestizos no emparentados con residencia en el Área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México.

MATERIALES Y METODOS

La información genética de esta población fue colectada como parte de un macroproyecto sobre la estructura genética de las poblaciones Mestizas Mexicanas. La muestra consistió de 143 individuos saludables y no emparentados. Mediante punción venosa se colectó sangre completa (5 ml) dentro de tubos que contenían EDTA, los tubos se agitaron suavemente para asegurar una buena mezcla del EDTA y la sangre.

Extracción de DNA. Se utilizaron pipetas de plástico para extraer la sangre de los tubos y colocar una gran gota (125 µl) en el centro de cada uno de los cuatro círculos de las tarjetas FTA. Cuando la sangre es colocada dentro de las tarjetas FTA, las células son lisadas, y el DNA del núcleo de los linfocitos es inmovilizado dentro de la matriz de la tarjeta. Mediante un lápiz perforador se realizó un corte de 1 mm de diámetro de la tarjeta y de ahí se extrajo el DNA de acuerdo a los procedimientos especificados por Budowle y Cols. (2000) para llevar a cabo la PCR.

Amplificación de los STRs: Los 13 STRs (D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, TH01 y D16S539) fueron tipificados utilizando el kit AmpFISTR™ Profiler Plus™ y el kit AmpFISTR™ Cofiler™ (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Se siguieron los protocolos recomendados por el proveedor.

Tipificación de los STRs: Las muestras fueron procesadas utilizando el Analizador Genético ABI Prism™ 310 (Applied Biosystems, Forster City, CA, USA). Las muestras fueron analizadas utilizando el medio de separación Performance Optimized Polymer (POP) 4™ (PE Biosystems, Foster City, CA, USA). Los genotipos fueron registrados con las designaciones alélicas mediante la comparación de los fragmentos de la muestra con aquellas de las escaleras alélicas (en unidades de tamaños repetitivos de los alelos).

Análisis Estadístico: Los análisis estadísticos realizados incluyeron los siguientes pasos:

(i) Cálculo de las frecuencias alélicas (Li 1976), el cálculo de las pruebas de expectativa de Hardy-Weinberg (HWE) de las frecuencias genotípicas (se utilizaron tres pruebas: prueba de homocigocidad; Nei 1978; prueba de razón de verosimilitud (LRT); Weir 1996; y la prueba exacta de Guo y Thompson, 1992) y el cálculo de las pruebas pareadas de desequilibrio de ligamiento (LD) entre todos los pares de loci (se aplico de nuevo la prueba LRT y el criterio de la prueba exacta; Zaykin y Cols. 1995). El nivel empírico de la significancia fue determinada para cada una de estas pruebas mediante la permutación de los alelos corriendo 10,000 replicaciones.

(ii) Se utilizó la prueba de independencia mutua de los 13 loci la cual consiste en comparar las distribuciones observadas y esperadas del número de alelos compartidos y del número de loci que exhiben identidad

genotípica con respecto a los perfiles de DNA de los 13 locus de todos los pares de los individuos muestreados (un total de 10,153 perfiles fueron comparados). Las distribuciones esperadas de estas estadísticas bajo la suposición de independencia común de los alelos dentro y a través de los loci fueron calculados basados en el algoritmo de Chakraborty y Jin (1992).

(iii) Evaluación del sumario estadístico de los niveles de polimorfismo y su utilidad a través de la estimación de la heterocigocidad específica para cada locus, su poder de exclusión (para pruebas de paternidad, Ohno y Cols. 1982) y el poder de discriminación (Jones 1972).

(iv) Estimación de los componentes de mezcla utilizando el método de máxima verosimilitud de Elston (1971). Para este objetivo, el modelo trihíbrido de mezcla para esta población Mestiza Mexicana se ajustó con las contribuciones de tres poblaciones ancestrales: España, Amerindia y Africana. Todas ellas representativas de las poblaciones ancestrales, la información de las frecuencias génicas de la región Sur-Oeste de España se obtuvo de Gamero y Cols. (2000). Las frecuencias alélicas de varias comunidades Amerindias (Apache, Navajo y Pueblo) representaron las frecuencias alélicas ancestrales Amerindias [datos no publicados de la SWGDAM (Scientific Working Group of DNA Analysis Methods) en los Estados Unidos, ver también Budowle y Cols. 2001], y para los Africanos se utilizaron las frecuencias alélicas de Nigeria (Deka

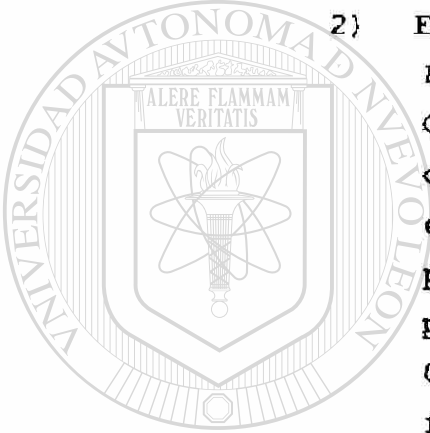
y Cols.- datos no publicados). Las estimaciones de mezcla se basaron en 10 loci (TPOX, CSF1PO y D16S539 fueron excluidos), debido a que estos tres loci no fueron tipificados para la información Africana de Nigeria.

(v) Comparación de la base de datos de la población Mestiza Mexicana con la base de datos de los hispanos de los Estados Unidos Para llevar a cabo esto, se realizaron dos tipos de comparaciones:

a. Las frecuencias alélicas para cada locus para la población Mexicana se compararon con la misma base de datos de los Hispanos de los Estados Unidos (Budowle y Cols. 1999). La prueba de Contingencia de Chi-cuadrada $R \times C$ fue utilizada con un nivel de significancia empírico (se determina mediante el uso de permutaciones), siguiendo el algoritmo de Roff y Bentzen, 1989).

b. Las frecuencias de los perfiles multilocus de los 143 individuos se calcularon en base las frecuencias génicas de esta base de datos y para aquellas frecuencias alélicas de los Hispanos de los Estados Unidos (Budowle y Cols. 1999). De la misma manera, las frecuencias de los perfiles multilocus de 209 Hispanos de los Estados Unidos (Budowle y Cols. 1999) también se computaron en base a los mismos dos conjuntos de frecuencias alélicas. Se realizaron diagramas de estos cálculos los que son representados en los siguientes tres pasos.

1) En el primer panel, se siguió el producto regla o también llamado multiplicación de los loci (bajo la suposición de HWE para cada locus y sin LD). Los alelos no se observaron en una base de datos, sino que se observan los perfiles en otra base de datos con frecuencias asignadas de $0.5/2n$ (n en este caso, representa el número de individuos muestreados en esta base de datos en donde el perfil no fue observado).



2) En el segundo panel, se utilizó la Recomendación 4.1 del National Research Council (1996), en la cual las frecuencias de los perfiles de los homocigotos son estimados con el ajuste de la subestructura poblacional ya ajustada [o en otras palabras, $p^2 + \theta p(1-p)$, con $\theta = 0.01$], pero las estimaciones de las frecuencias de los heterocigotos requeridos no son ajustados (para de esta forma alcanzar un cálculo moderado). En estos cálculos, todas las frecuencias menor al valor de umbral mínimo fueron reemplazados por los valores de umbral como se determina por la teoría de Chakraborty y Cols. (1988).

3) En el tercer panel, se realizó una evaluación de las probabilidades condicionales (fórmulas 4.10a y 4.10b de la NRC, 1996) mediante el uso de las frecuencias alélicas del umbral mínimo.

Ecuación 4.10a de la NRC

Homocigoto: $P(A_i A_j | A_i A_i) =$

$$\frac{[2\theta + (1 - \theta)p_i][3\theta + (1 - \theta)p_i]}{(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$$

Ecuación 4.10b de la NRC

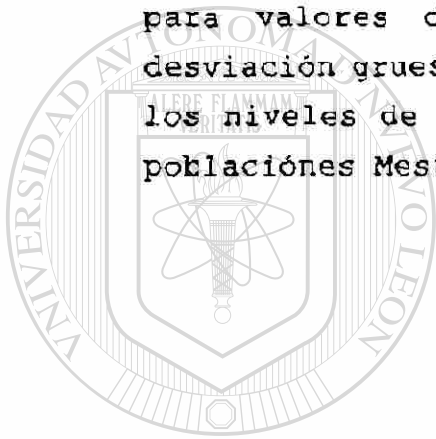
Heterocigoto: $P(A_i A_j | A_i A_j) =$

$$\frac{2[\theta + (1 - \theta)p_i][\theta + (1 - \theta)p_j]}{(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$$

RESULTADOS

Las distribuciones (en por ciento) de los alelos observados para los 13 STR loci estudiados, se muestran en la Tabla 4.1. También se muestran en esta tabla las estimaciones de las frecuencias alélicas de umbral mínimo para cada locus. Ningún alelo se encontró fuera de la escalera en esta muestra y las estimaciones de las frecuencias alélicas de umbral mínimo se encuentran dentro de los intervalos observados en otras bases de datos de tamaño similar (Chakraborty y Cols. 1998). El tamaño de muestra de la base de datos es también adecuada para utilizar estas frecuencias génicas para los propósitos de DNA forense y pruebas de paternidad en las poblaciones Mestizas Mexicanas del Noreste (Evett y Gill 1991, Chakraborty y Jin 1992).

La Tabla 4.2 presenta únicamente todos aquellos pares de loci que mostraron desviaciones significativas de las expectativas de Hardy-Weinberg y del equilibrio de ligamiento para pares de loci. De las 13 pruebas de HWE para cada locus, únicamente el locus D3S1358 se desvió de las suposiciones de HWE para la prueba exacta y la prueba LRT. Solo cuatro de los 78 pares de loci mostraron desviaciones de equilibrio de ligamiento (LE), de los cuales en tres pares participo el mismo locus (D3S1358 se desvio de HWE). Por lo tanto, aún sin ningún ajuste para pruebas múltiples (por ejemplo, la corrección de Bonferroni para valores de p), no existió evidencia de ninguna desviación gruesa (por ejemplo las desviaciones que excedan los niveles de significancia nominal) de HWE y LE en las poblaciones Mestizas del Noreste de México.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 4.1. Frecuencias alélicas(%) y frecuencia alélica mínima (FAM en %) para 13 loci en la población Mestiza Mexicana del Noreste.

Alelo	D3S1358	VWA	FGA	DES1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820	CSE1PO	TPOX	TH01	D16S539
N	143	143	143	143	143	143	143	143	143	143	143	143	143
6													
7									1.40	0.35	0.35	28.67	
8				0.70			7.69		8.39	0.35	49.30	30.77	
9							0.35	9.09	8.74	0.70	8.74	10.49	0.35
9.1							4.55	23.08	0.35		8.74	9.44	9.79
9.3													
10				12.59		1.05	6.29	6.99	29.02	24.13	2.80	19.23	19.58
11				7.34		2.10	38.81	19.58	27.97	28.67	31.12	1.40	31.82
12	0.35			11.19		9.09	29.37	25.17	19.93	39.86	7.34		26.92
13	1.05			32.52		11.19	11.54	12.24	3.85	4.20	0.35		9.79
14	7.34	8.74		22.38		17.13	1.05	3.85	0.35	1.75			1.75
15	40.91	10.49		10.84		16.78	0.35						
16	23.78	31.82		2.45		12.24							
17	14.69	29.72				15.38							
18	11.54	13.64	1.05			8.04							
19	0.35	5.59	8.74			1.75							
20			10.49			3.50							
21			11.54			0.70							
22			11.89			0.70							
23			15.73										
23.2			0.35										
24			17.48			0.35							
25			12.24										
26			7.34										
27			2.10										
28			0.70										
28.2													
29													
29.2													
30			0.35										
30.2													
31													
31.2													
32													
32.2													
33.2													
34.2													
FAM (%)	1.77	1.81	1.99	1.85	1.90	1.98	1.77	1.88	1.83	1.72	1.66	1.81	1.81

Tabla 4.2. Desviaciones significativas observadas y valores de P para las expectativas de Hardy-Weinberg y equilibrio de ligamiento.

Prueba de HWE*		Prueba de LD**	
valor de P		valor de P	
Loci	Exacta	LRT***	Exacta
			LRT***
D3S1358	0.020	0.018	-
			.044
		D3S1358-D21S11	
		D3S1358-D13S317	.023
			.040
		D3S1358-CSF1PO	.018
			.009
		D5S818-D16S539	.020
			.024

* Prueba para el equilibrio de Hardy-Weinberg. Valores empíricos de significancia (valores de P) son mostrados para estos loci donde las desviaciones fueron significativas ($p < 0.05$). Exacta se refiere a la prueba exacta de Guo y Thompson (1992) y LRT es la prueba de razón de verosimilitud (Weir 1996).

** La prueba LD se refiere a la prueba de desequilibrio de ligamiento entre todos los pares de loci (Zaykin y Cols. 1995). Solo se dan los pares que mostraron desviaciones significativas de equilibrio de ligamiento ($p < 0.05$) con sus respectivos valores de P. Los valores de P para ambas pruebas están basadas en 10,000 repeticiones de permutaciones.

*** LRT = Prueba de razón de verosimilitud.

La Tabla 4.3 muestra los valores específicos para cada locus: la heterocigocidad observada y esperada (insesgada), la probabilidad de exclusión (PE) y el poder de discriminación (PD) en base a las frecuencias alélicas de los datos presentados en la Tabla 4.1. Claramente, cada uno de los 13 loci es altamente polimórfico en esta población Mestiza y los valores de PE y PD son comparables con otras bases de datos en el mundo (Budowle y Cols. 2001). La probabilidad de exclusión promedio combinada y el poder de discriminación combinado se muestran en un formato que también refleja la eficiencia acumulada de estos loci en análisis de parentesco y forense. Por ejemplo, el valor de PE combinada es de $1-8.90 \times 10^{-6}$ lo que indica que, en un promedio, alrededor de 1 de cada 112,360 hombres acusados erróneamente no serán excluidos como posibles padres, cuando una madre y su hijo sean tipificados con todos los 13 loci. De la misma manera, el PD combinado, $1-2.83 \times 10^{-15}$ implica que la probabilidad de coincidencia para estos 13 loci es aproximadamente de 1 en 353 trillones de pruebas. Obviamente estos valores son el promedio para todo el conjunto de los 13 loci estudiados aquí, y por lo tanto, para determinados genotipos específicos estos números variarían. Sin embargo, las estimaciones promedio conducen a la conclusión de que estos 13 STR loci pueden ser utilizados también como una batería de marcadores para pruebas de DNA en la población Mestiza Mexicana.

Tabla 4.3. Heterocigosidad específica para cada locus, probabilidad de exclusión y poder de discriminación para 13 loci STRs CODIS en la población Mestiza Mexicana del Moreste.

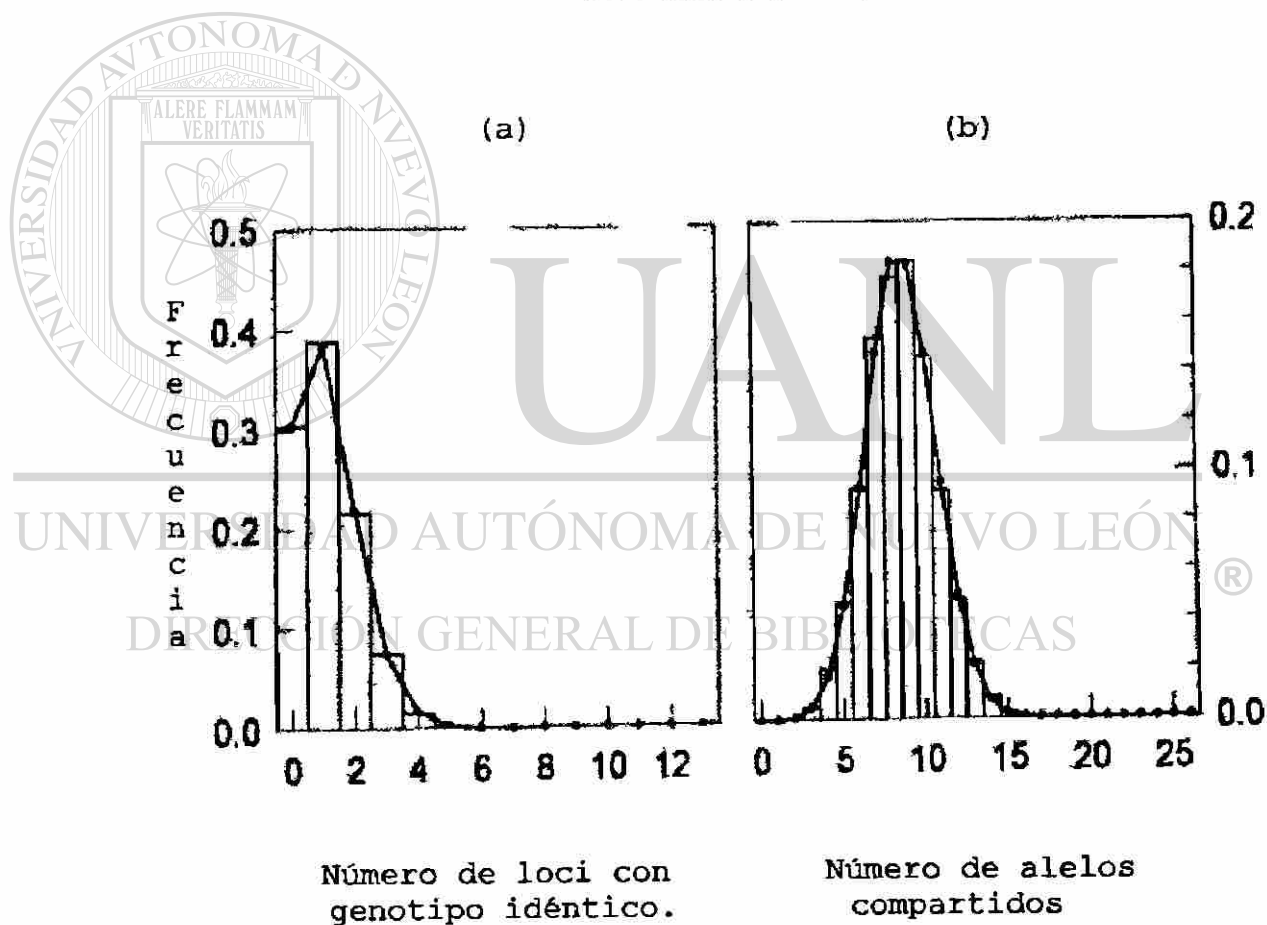
Loci	Heterocigosidad		Probabilidad de		Poder de
	(observada - esperada)		Exclusion	Discriminación	
D3S1358	0.6783 - 0.7383		0.5145		0.8922
VWA	0.7552 - 0.7728		0.5611		0.9128
FGA	0.9441 - 0.8807		0.7515		0.9724
D8S1179	0.8531 - 0.8008		0.6116		0.9227
D21S11	0.8681 - 0.8326		0.6670		0.9506
D18S51	0.8741 - 0.8775		0.7461		0.9712
DSS818	0.6853 - 0.7403		0.5194		0.8928
D13S317	0.7902 - 0.8183		0.6342		0.9405
D7S820	0.8112 - 0.7842		0.5768		0.9194
CSF1PO	0.7133 - 0.7010		0.4401		0.8537
TPOX	0.6853 - 0.6485		0.3946		0.8183
TH01	0.7632 - 0.7687		0.5474		0.9078
D16S539	0.7972 - 0.7711		0.5526		0.9099
Combinada			1 - 8.90*10 ⁻⁶		1 - 2.83*10 ⁻¹⁵

Ya que los cálculos de la probabilidad combinada para los 13 loci involucra la suposición de independencia mutua de los loci (además de la suposiciones de HWE y LE), la Figura 4.2 muestra la conformidad con esta suposición. Las distribuciones observadas (mediante un histograma) y esperadas (mediante una grafica lineal) del número de loci que exhiben identidad genotípica de todas las posibles comparaciones de los perfiles de los 13 loci pareados (panel a) y para los alelos compartidos (panel b) son prácticamente idénticas. En una comparación de dos perfiles aleatorios de los 13 loci en esta población, el número promedio de alelos compartidos fue de 8.54 (SD = 2.13), mientras que bajo la suposición de independencia mutua de los alelos la expectativa fue de 8.57 (SD = 2.10). De la misma manera, el número de loci observados y esperados que mostraron coincidencias genotípicas en los dos perfiles aleatorios fueron 1.12 y 1.13 (SD 0.99 y 1.00, respectivamente). Por lo tanto, para los estadísticos de significado forense, la información de los perfiles genotípicos concuerdan casi perfectamente con las predicciones del principio de independencia mutua de los alelos dentro y a través de los loci.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

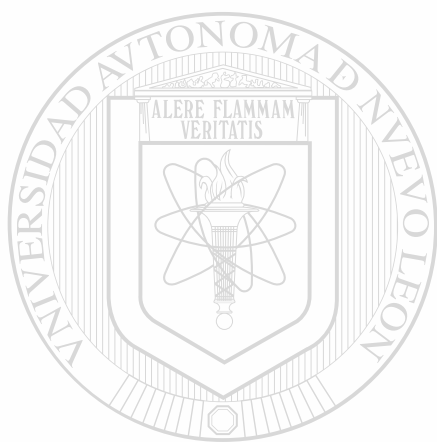
Figura 4.2. Distribuciones observadas y esperadas del número de loci con identidad genotípica y el número de alelos compartidos en pares comparado con los perfiles de DNA de los 143 individuos (110,153 comparaciones). Las distribuciones esperadas están bajo la suposición de independencia mutua de los alelos dentro y a través de los loci.

NORESTE DE MÉXICO



Los resultados de la comparación de esta base de datos de los Mestizos del Noreste de México con la de los Hispanos de los Estados Unidos (Budowle y Cols. 1999) se muestran en la Figura 4.3. Primero, el análisis de tabla de contingencia $R \times C$ para la comparación de las frecuencias alélicas detectó significancia ($p = 0.021$) únicamente para el locus VWA . La estimación de la frecuencia de perfil basada en las estimaciones de las frecuencias alélicas de las dos bases de datos para los 143 individuos Mestizos como para los 209 individuos Hispanos de los Estados Unidos se cruzan en una línea de 45 grados (Figura 4.3, en los tres paneles). Un examen muy minucioso reveló que cuando se utiliza estrictamente el producto regla (con la suposición de HWE y LE), las estimaciones de las frecuencias de perfil basadas en las analogías (misma muestra) de las frecuencias alélicas son generalmente mayores (panel a), lo que indica que a pesar de las críticas de Krane y Cols. (1992) el principio del producto regla es apoyado. Sin embargo, dos estadíos de conservación son involucrados en: (I) el panel b (la Recomendación 4.2 de la NRC, 1996; haciendo ajustes para el efecto de la subestructura poblacional e involucrando la frecuencia alélica del umbral mínimo para los alelos raros), y (II) el panel c (fórmulas 4.10a y b de la NRC 1996; probabilidades condicionales que involucran las frecuencias alélicas de umbral mínimo), los puntos en el diagrama de dispersión son mucho más cercanos a la línea de 45 grados, desapareciendo la separación de las dos muestras poblacionales. Esto demuestra la validación empírica de las recomendaciones de la NRC (1996), lo que indica que los medios de estimación de las frecuencias de perfil comúnmente empleadas alcanzan el propósito de eliminación prácticamente del efecto de las diferencias de

las frecuencias alélicas en las subpoblaciones (o de estas muestras en particular).



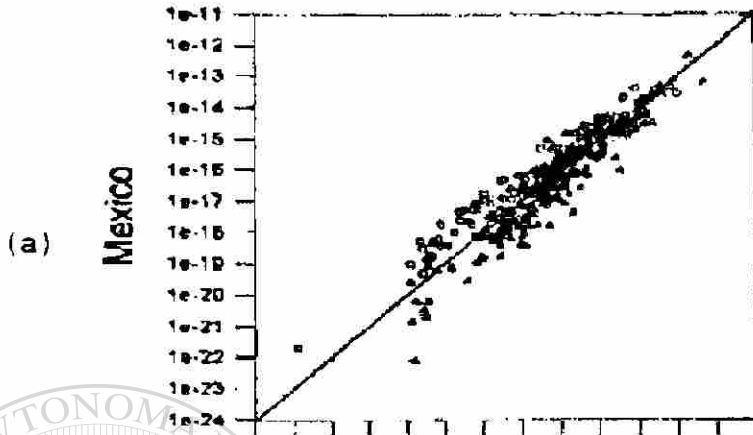
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

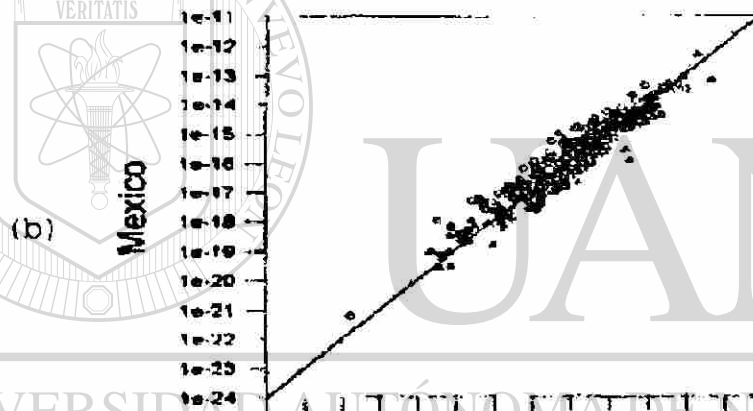
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

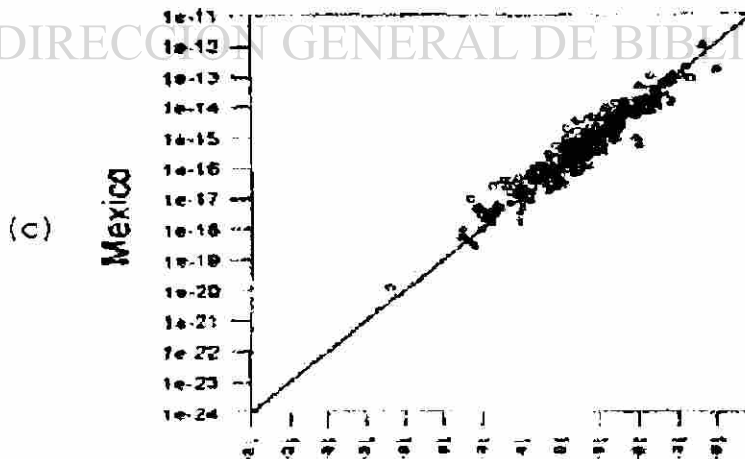
Figura 4.3 Comparación de la base de Datos de los Mestizos del Noreste de México con la de los Hispanos en los Estados Unidos.



N = 209 + 143
Al utilizar $0.5/2n$
reemplaza la
frecuencia cero



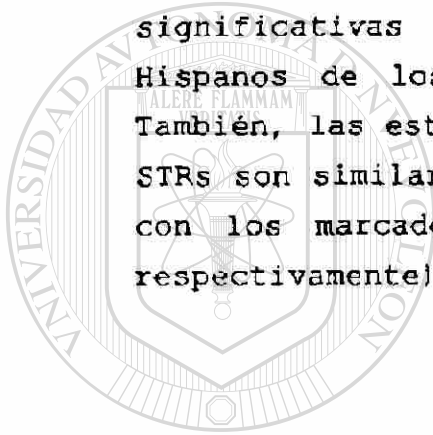
N = 209 + 143
Al utilizar la
mínima frecuencia
alélica (pmin)
reemplaza las
frecuencias más
pequeñas
 $\theta=0.01$
Recomendación 4.1
del NRC



N = 209 + 143
Al utilizar la
mínima frecuencia
alélica (pmin)
reemplaza las
frecuencias más
pequeñas
 $\theta=0.01$
Ecuación 4.1 y 4.2
del NRC

Hispanos en los E.U.

Finalmente, las estimaciones de mezcla génica (las contribuciones de las tres poblaciones antecesoras) se muestran en la Tabla 4.4. Como se muestra en el Apéndice B, las frecuencias alélicas para la muestra Nigeriana (Africanas) no están disponibles para tres loci (TPOX, CSF1PO y D16S539), y por lo tanto, las estimaciones de mezcla para los loci STR se basaron en 10 loci. Las contribuciones relativas de los Españoles, Amerindios y Africanos para la población Mestiza del Noreste de México son aproximadamente del 55%, 40% y 5%, respectivamente; estas contribuciones no mostraron diferencias significativas ($p > 0.76$) al ser comparadas con los Hispanos de los EU (54%, 41% y 5%, respectivamente). También, las estimaciones de mezcla génica basados en los STRs son similares a la información reportada previamente con los marcadores D1S80 y HLA-DQA1 (60%, 37% y 3%, respectivamente) (Cerdá-Flores y Cols. 2001).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 4.4. Contribución de las poblaciones antecesoras Española, Amerindia y Africana para las poblaciones Mestizas del Noreste de México e Hispanas de los Estados Unidos.

Marcadores	España	Amerindia	Africana
HLA-DQA1 y D1S80 ^a	59.99 ± 5.94	36.99 ± 5.04	3.02 ± 2.76
10 STR ^b	54.99 ± 3.44	39.99 ± 2.57	5.02 ± 2.82
10 STR ^c	50.00 ± 2.64	44.00 ± 2.17	6.00 ± 2.13

^a Población Mestiza de Monterrey, México (Cerdeña-Flores y Cols. 2001)

^b Población Mestiza de Monterrey (presente estudio)

^c Hispanos de los Estados Unidos (Budowle y Cols. 1999)

Nota: Los 10 STRs fueron D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820 y TH01. Las estimaciones de mezcla génica basadas en D1S80/HLA-DQA1 y los loci STRs para la población de Monterrey no tienen diferencias significativas ($p > 0.46$) y al comparar los 10 STRs entre poblaciones de Monterrey con los Hispanos tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0.25$).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Este es el primer estudio que utiliza los 13 STRs loci en una población Mestiza Mexicana, en donde la información genotípica ha sido presentada en 143 individuos no emparentados. Nuestros resultados concuerdan con la etnohistoria Mexicana. Todos estos marcadores de DNA muestran que la población tiene un origen Mestizo, con contribución de genes de Españoles, Amerindios y Africanos, en una proporción de 55%, 40% y 5%, respectivamente.

El hecho de que se hayan seleccionado frecuencias alélicas ancestrales podría de alguna manera influir en las estimaciones de mezcla génica de esta población Mestiza (Chakraborty, 1986). Consideramos que estas estimaciones son probablemente confiables por las siguientes razones que argumentamos:

Primero, se seleccionaron otras poblaciones de Africa (por ejemplo, Angola y Mosambique - <http://www.uni-Duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/>) y otras poblaciones de España (Galicia y total de España - <http://www.uni-Duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/>) y las estimaciones de mezcla génica (Tabla 4.4) no cambiaron significativamente (información no presentada).

Segundo, estas estimaciones de mezcla génica son consistentes con aquellas basadas en D1S80 y HLA-DQA1 (Tabla 2.4, Cerda-Flores y Cols., 2001), y también con aquellas obtenidas con grupos sanguíneos (Cerda-Flores y Cols. 1987).

Tercero, el modelo de mezcla trihíbrido es también apoyado por la etnohistoria de las poblaciones Mestizas Mexicanas (Lisker 1981; Crawford y Cols. 1976).

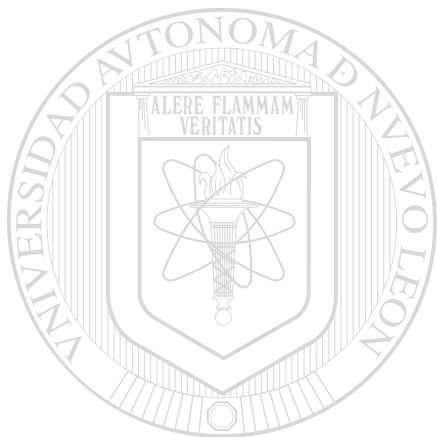
Cuarto, la suficiencia de estos 13 loci STR para la estimación de la proporción de mezcla génica puede ser juzgada a través del cálculo del Delta-score compuesto de las diferencias de las frecuencias alélicas entre las tres poblaciones ancestrales (1- la mitad de las diferencias de las sumas de las frecuencias alélicas absolutas entre las poblaciones parentales; Shriver y Cols. 1997). Únicamente el locus D8S1179 tuvo un Delta-score compuesto menor a 0.27 para las diferencias de las frecuencias alélicas Española-Amerindia; tres (vWA, FGA y D5S818) cayeron en esta categoría para las diferencias Española-Africana y ninguna para las diferencias Amerindia-Africana (ver Apéndice B). Por lo tanto, este procedimiento también establece que los 13 loci STR son de utilidad para estimar las proporciones de mezcla en las poblaciones del Continente Americano (en muchas de las cuales el mestizaje ocurrió de las mismas tres fuentes - Europeos, Amerindias y Africanos).

En vista del origen Mestizo de esta población, las características resumidas de la variación genética de estos 13 loci en esta población Mestiza (mostradas en las Tablas 4.1-4.3 y las Figuras 4.2 y 4.3) son de gran interés. Con la historia del mestizaje alrededor de los 400 años (o aproximadamente 20 generaciones), los Delta-scores compuestos de la magnitud resumida anteriormente debió haber generado un considerable desequilibrio de ligamiento entre estos marcadores, aún y cuando éstos no están ligados (Chakraborty y Weiss, 1988). Aunque esto prácticamente no

ha impactado en las desviaciones de HWE, LE y la independencia mutua de los alelos dentro y a través de los loci (Tabla 4.2 y Figura 4.2). Uno quizás argumente que esto es debido al bajo poder estadístico para detectar desequilibrio a través de estas pruebas. De hecho, estas pruebas tienen un poder limitado (Ward y Sing 1970; Zaykin y Cols. 1995). Sin embargo, el bajo nivel de las diferencias de las frecuencias alélicas entre las muestras de Mestizos de México y de Hispanos de los Estados Unidos (Budowle y Cols. 1999), junto con la cercana similitud de las estimaciones de las frecuencias de los perfiles (Figura 4.2, paneles b y c), indican que sólo una mínima cantidad de ajuste (por ejemplo, $\theta = 0.01$) es necesaria para tomar en cuenta cualquier efecto de mezcla reciente en esta población. En este contexto no tiene valor que la diversidad genética estimada de θ basada en las diferencias de las frecuencias alélicas regionales de las poblaciones Hispánicas de los Estados Unidos es de 0.21% (Budowle y Cols. 2001), mucho menor que el 1%, que nosotros utilizamos en nuestros cálculos (Figura 4.2).

Finalmente, este estudio ilustra la necesidad de establecer tales bases de datos también en otras regiones de México. Las diferencias regionales de las contribuciones de los diferentes pools génicos pueden ser detectadas a través de estos loci, y su impacto en los cálculos forenses pueden ser evaluados. Para tres de estos loci (vWA, TH01 y CSF1PO), un reciente estudio presentó frecuencias alélicas de la población Mestiza Mexicana del Estado de Jalisco, localizado en el Oeste de México (Rangel-Villalobos y Cols. 1999). Se observaron diferencias mínimas para el locus vWA (Chi-cuadrada de contingencia $R \times C = 12.32$, $p = 0.03$

mediante el algoritmo de Roff y Bentzen, 1989), y ninguna para los otros dos. Este es consistente con casi ninguna diferencia de los componentes de mezcla génica en Jalisco y Nuevo León basados en D1S80 y HLA-DQA1, los cuales ya han sido reportados (Cerdeña-Flores y Cols. 2001). Por lo tanto, dada la disponibilidad de la información genética sobre estos loci en México se debería de incrementar nuestra comprensión de la estructura poblacional de varias poblaciones Mexicanas y mejorar la interpretación estadística de los resultados dentro del campo de DNA forense y de las pruebas de paternidad.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



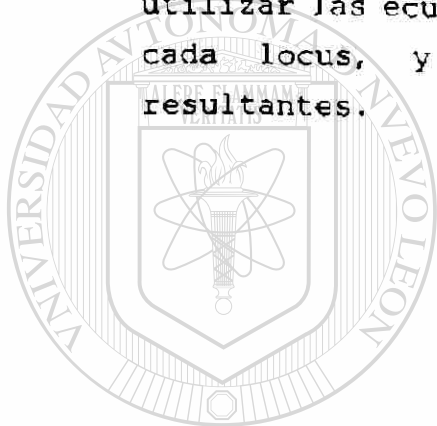
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Apéndice A

Recomendaciones para estimar las probabilidades de semejanza aleatoria.

Recomendación 4.1. De manera general, el cálculo de la frecuencia de un perfil se realizará utilizando el producto regla. En caso de conocer el origen étnico de una persona quien dejo la evidencia de DNA, se utilizará la base de datos del origen étnico de esa persona; pero si se desconoce el origen étnico, se realizarán los cálculos para todos los grupos étnicos para los cuales los sospechosos pudieran pertenecer. Para marcadores tales como los VNTRs, en donde puede malinterpretarse el locus heterocigoto por el de uno que sea homocigoto, si se desea un limite superior de la frecuencia del genotipo para un aparente locus homocigoto (una sola banda), deberá de utilizarse entonces el doble producto de la frecuencia alélica (binneada), $2p$, en lugar de p^2 . Para todos aquellos sistemas en los cuales los genotipos pueden ser determinados con exactitud, $p^2 + p(1-p)\theta$ se deberá utilizar para la frecuencia de tal locus en lugar de p^2 . Para la población de los EU, un valor moderado del promedio de θ es de 0.01; mientras que para las poblaciones aisladas y pequeñas, un valor de 0.03 es el mas apropiado. Para ambos tipos de sistemas, $2p_1p_2$ deberá ser utilizado para los heterocigotos. El valor de θ es una medición determinada empiricamente para poblaciones subdivididas.

Recomendación 4.2: Si se conoce la subpoblación específica de donde la evidencia de la muestra procede, se deberán de utilizar las frecuencias alélicas para el subgrupo en particular como se describió en la recomendación 4.1. En caso de que las frecuencias alélicas para el subgrupo no se encuentren disponibles, aun y que se tenga la información de toda la población, entonces los cálculos deberán de utilizar las ecuaciones 4.10 de estructura poblacional para cada locus, y deberán de multiplicarse los valores resultantes.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Apéndice B. Distribución de las frecuencias génicas de las poblaciones Mexicanas e Hispanas de los Estados Unidos y de las tres poblaciones antecesoras utilizando 10 loci STRs y cálculo del Delta-score compuesto (S:España, I: Amerindia y N:Africana).

Delta-score compuesto

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Amerindia	Africana	S-I	S-N	I-N
D3S1358	11	.0000	.0000	.0000	.0000	.0104	.0000	.0104	.0104
D3S1358	12	.0035	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
D3S1358	13	.0105	.0024	.0109	.0080	.0000	.0029	.0109	.0080
D3S1358	14	.0734	.0789	.0797	.0606	.1354	.0191	.0557	.0748
D3S1358	15	.4091	.4258	.2283	.6533	.3125	.4250	.0842	.3408
D3S1358	16	.2378	.2656	.2427	.1682	.3125	.0745	.0698	.1443
D3S1358	17	.1469	.1268	.2174	.0767	.1771	.1407	.0403	.1004
D3S1358	18	.1154	.0837	.1993	.0320	.0521	.1673	.1472	.0201
D3S1358	19	.0035	.0144	.0217	.0011	.0000	.0206	.0217	.0011
D3S1358	20	.0000	.0024	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
SUMA		1.0001	1.0000	1.0000	.9999	1.0000	.8501	.4402	.6999

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Americindia	Africana	(S-I)	(S-N)	(I-N)
VWA	11	.0000	.0025	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
VWA	13	.0000	.0000	.0000	.0011	.0000	.0011	.0000	.0011
VWA	14	.0874	.0616	.1159	.0446	.0870	.0713	.0289	.0424
VWA	15	.1049	.0764	.1667	.0355	.3044	.1312	.1377	.2689
VWA	16	.3182	.3596	.2681	.4394	.2991	.1713	.0290	.2003
VWA	17	.2972	.2217	.1739	.2540	.1739	.0801	.0000	.0801
VWA	18	.1364	.1946	.1739	.1453	.0870	.0286	.0869	.0583
VWA	19	.0559	.0704	.0761	.0664	.0652	.0097	.0109	.0012
VWA	20	.0000	.0123	.0254	.0137	.0109	.0117	.0145	.0028
VWA	21	.0000	.0000	.0000	.0000	.0217	.0000	.0217	.0217
VWA	22	.0000	.0000	.0000	.0000	.0109	.0000	.0109	.0109
SUMA		1.0000	0.9991	1.0000	1.0000	1.0001	.5050	.3405	.6877

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Amerindia	Africana	S-II	S-NI	I-NI
FGA	<18	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
FGA	18	.0105	.0025	.0145	.0092	.0000	.0053	.0145	.0092
FGA	19	.0874	.0788	.0688	.1785	.0761	.1097	.0073	.1024
FGA	20	.1049	.0739	.1413	.1076	.0326	.0337	.1087	.0750
FGA	21	.1154	.1330	.1522	.1144	.1087	.0378	.0435	.0057
FGA	22	.1189	.1823	.1848	.0904	.1848	.0944	.0000	.0944
FGA	23	.1608	.1478	.1703	.0664	.1848	.1039	.0145	.1184
FGA	24	.1748	.1256	.1667	.1316	.1739	.0351	.0072	.0423
FGA	25	.1224	.1379	.0652	.1808	.1196	.1156	.0544	.0612
FGA	26	.0734	.0837	.0290	.0881	.0326	.0591	.0036	.0555
FGA	27	.0210	.0320	.0036	.0332	.0326	.0296	.0290	.0006
FGA	28	.0070	.0025	.0036	.0000	.0544	.0036	.0508	.0544
FGA	29	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
FGA	>29	.0035	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
SUMA		1.0000	1.0000	1.0000	1.0002	1.0001	.6278	.3335	.6191

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Americana	Africana	S-I-I	S-N-I	I-I-N-I
D8S1179	8	.0070	.0025	.0072	.0000	.0000	.0072	.0072	.0000
D8S1179	9	.0000	.0025	.0181	.0080	.0000	.0101	.0181	.0080
D8S1179	10	.1259	.0936	.0978	.1373	.0000	.0395	.0978	.1373
D8S1179	11	.0734	.0616	.1087	.0503	.0106	.0584	.0981	.0397
D8S1179	12	.1119	.1207	.0978	.0927	.1170	.0051	.0192	.0243
D8S1179	13	.3252	.3251	.2645	.3249	.2553	.0604	.0092	.0696
D8S1179	14	.2238	.2463	.2391	.2723	.3723	.0332	.1332	.1000
D8S1179	15	.1084	.1158	.1014	.0995	.2128	.0019	.1114	.1133
D8S1179	16	.0245	.0246	.0543	.0137	.0319	.0406	.0224	.0182
D8S1179	17	.0000	.0074	.0109	.0000	.0000	.0109	.0109	.0000
D8S1179	18	.0000	.0000	.0000	.0011	.0000	.0011	.0000	.0011
SUMA		1.0001	1.0001	.9998	.9998	.9999	.2684	.5275	.5115

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Amerindia	Africana	IS-I	IS-N	I-N
D21S11	24.2	.0000	.0025	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
D21S11	25	.0000	.0000	.0000	.0104	.0000	.0104	.0104	.0104
D21S11	26	.0000	.0000	.0000	.0011	.0104	.0011	.0104	.0093
D21S11	27	.0035	.0099	.0072	.0103	.0417	.0031	.0345	.0314
D21S11	28	.1084	.0690	.1667	.0526	.2813	.1141	.1146	.2287
D21S11	29	.2168	.2069	.2246	.1533	.1771	.0713	.0475	.0238
D21S11	30	.3112	.3621	.2971	.4966	.1771	.1995	.1200	.3195
D21S11	31	.1818	.1552	.1521	.1773	.1250	.0252	.0271	.0523
D21S11	32	.1364	.1478	.1051	.0870	.0938	.0181	.0113	.0068
D21S11	33	.0000	.0000	.0072	.0000	.0000	.0072	.0072	.0000
D21S11	33.2	.0365	.0419	.0398	.0000	.0208	.0398	.0190	.0208
D21S11	34	.0000	.0000	.0000	.0217	.0104	.0217	.0104	.0113
D21S11	34.2	.0035	.0049	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
D21S11	35	.0000	.0000	.0000	.0000	.0313	.0000	.0313	.0313
D21S11	36	.0000	.0000	.0000	.0000	.0208	.0000	.0208	.0208
D21S11	38	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
SUMA		1.0001	1.0002	.9998	.9999	1.0001	.5011	.4645	.7664

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Americinda	Africana	S-I-I	S-N-I	I-I-NI
D18S51	9	.0000	.0000	.0072	.0000	.0000	.0072	.0072	.0000
D18S51	10	.0105	.0049	.0326	.0023	.0000	.0303	.0326	.0023
D18S51	11	.0210	.0123	.0145	.0080	.0106	.0065	.0039	.0026
D18S51	12	.0909	.1059	.2811	.1087	.0957	.0724	.0854	.0130
D18S51	13	.1119	.1700	.0978	.2391	.0319	.1413	.0659	.2072
D18S51	14	.1713	.1700	.1522	.1590	.0532	.0068	.0990	.1058
D18S51	15	.1678	.1379	.1196	.0824	.2021	.0372	.0825	.1197
D18S51	16	.1224	.1158	.1304	.2059	.0957	.0755	.0347	.1102
D18S51	17	.1538	.1379	.1232	.1178	.2234	.0054	.1002	.1056
D18S51	18	.0804	.0517	.0471	.0378	.1064	.0093	.0593	.0686
D18S51	19	.0175	.0369	.0507	.0183	.0851	.0324	.0344	.0668
D18S51	20	.0350	.0172	.0217	.0092	.0638	.0125	.0421	.0546
D18S51	21	.0070	.0197	.0145	.0092	.0213	.0053	.0068	.0121
D18S51	22	.0070	.0074	.0072	.0011	.0000	.0061	.0072	.0011
D18S51	23	.0000	.0123	.0000	.0011	.0106	.0011	.0106	.0095
D18S51	24	.0035	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
SUMA		1.0000	0.9999	.9998	.9999	.9998	.4493	.6718	.8791

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Amerindia	Africana	S-I	S-N	I-N
D5S818	7	.0769	.0616	.0000	.1304	.0104	.1304	.0104	.1200
D5S818	8	.0035	.0025	.0109	.0206	.0417	.0097	.0308	.0211
D5S818	9	.0455	.0542	.0396	.0114	.0208	.0284	.0190	.0094
D5S818	10	.0629	.0665	.0688	.0824	.1563	.0136	.0875	.0739
D5S818	11	.3681	.4212	.3043	.5515	.2188	.2472	.0855	.3327
D5S818	12	.2937	.2906	.3732	.1236	.3333	.2496	.0399	.2097
D5S818	13	.1154	.0961	.1956	.0778	.1979	.1178	.0023	.1201
D5S818	14	.0105	.0049	.0072	.0023	.0208	.0049	.0136	.0185
D5S818	15	.0035	.0025	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
SUMA		1.0000	1.0001	.9998	1.0000	1.0000	.8016	.2890	.9054

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Americindia	Africana	S-I	S-N	I-N
D13S317	8	.0909	.0665	.1340	.0240	.0213	.1100	.1127	.0027
D13S317	9	.2308	.2192	.0725	.2529	.0000	.1804	.0725	.2529
D13S317	10	.0699	.1010	.0725	.1030	.0213	.0305	.0512	.0817
D13S317	11	.1958	.2020	.2754	.2334	.2447	.0420	.0307	.0113
D13S317	12	.2517	.2167	.2971	.2311	.5106	.0660	.2135	.2795
D13S317	13	.1224	.1379	.1159	.1384	.1277	.0225	.0118	.0107
D13S317	14	.0385	.0567	.0326	.0160	.0638	.0166	.0312	.0478
D13S317	15	.0000	.0000	.0000	.0011	.0106	.0011	.0106	.0095
SUMA		1.0000	1.0000	1.0000	.9999	1.0000	.4691	.5342	.6961

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Amerindia	Africana	S-II	S-NI	I-NI
D7S820	6	.0000	.0024	.0000	.0000	.0106	.0000	.0106	.0106
D7S820	7	.0140	.0215	.0254	.0046	.0106	.0208	.0148	.0060
D7S820	8	.0839	.0981	.1123	.0950	.2340	.0173	.1217	.1390
D7S820	9	.0909	.0478	.1449	.0286	.1064	.1163	.0385	.0778
D7S820	10	.2902	.3062	.2572	.1773	.3404	.0799	.0832	.1631
D7S820	11	.2797	.2895	.2246	.4073	.2128	.1827	.0118	.1945
D7S820	12	.1993	.1914	.1739	.2643	.0638	.0904	.1101	.2005
D7S820	13	.0385	.0383	.0580	.0217	.0213	.0363	.0367	.0004
D7S820	14	.0035	.0048	.0036	.0011	.0000	.0025	.0036	.0011
SUMA		1.0000	1.0000	.9999	.9999	.9999	.5462	.4310	.7930

STR	Alelo	México	Hispanos	España	Amerindia	Africana	(S-I)	(S-N)	(I-N)
TH01	5	.0000	.0024	.0008	.0011	.0000	.0003	.0008	.0011
TH01	6	.2867	.2321	.2247	.2174	.1280	.0073	.0967	.0894
TH01	7	.3077	.3373	.1517	.4805	.5290	.3288	.3773	.0485
TH01	8	.1049	.0813	.1382	.0492	.1570	.0890	.0188	.1076
TH01	9	.2867	.3445	.4709	.0458	.1860	.4251	.2849	.1402
TH01	10	.0140	.0024	.0126	.2059	.0000	.1933	.0126	.2059
TH01	11	.0000	.0000	.0008	.0000	.0000	.0008	.0008	.0000
SUMA		1.0000	1.0000	.9997	.9999	1.0000	1.0446	.7919	.5929

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



BIBLIOGRAFIA

Budowle B, Moretti TR, Baumstark AL, Defenbaugh DA, Keys KM. 1999. Population data on the thirteen CODIS core short tandem repeat loci in African Americans, US Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans, and Trinidadians. *J Forensic Sci* 44:1277-1286.

Budowle B, Smith J, Moretti T, DiZinno J. 2000. *DNA Typing Protocols: Molecular Biology and Forensic Analysis*. Natick, MA: Eaton Publishing, pp. 41-42.

Budowle B, 2001 (en proceso)

Censo, 2000. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2000. XII Censo general de población y vivienda. México, DF: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (<http://www.INEGI.gob.mx>).

Cerda-Flores RM, Barton SA, Hanis CL, Chakraborty R. 1994. Genetic variation by birth cohorts in Mexican Americans of Starr County, Texas. *Am J Hum Biol* 6:669-674.

Cerda-Flores RM, Kshatriya GK, Barton SA, Leal-Garza CH, Garza-Chapa R, Schull WJ, Chakraborty R. 1991. Genetic structure of the populations migrating from San Luis Potosi and Zacatecas to Nuevo León in México. *Hum Biol* 63:309-327.

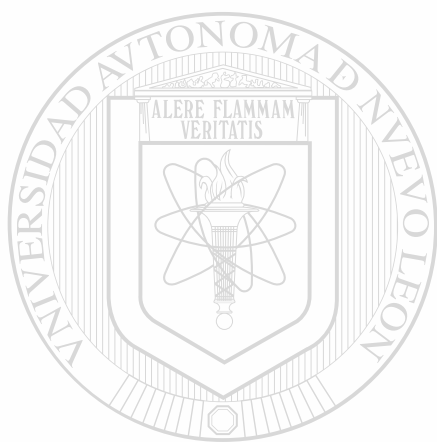
Cerda-Flores RM, Ramírez-Fernández E, Garza-Chapa R. 1987. Genetic admixture and distances between populations from Monterrey, Nuevo León, México and their putative ancestral populations. *Hum Biol* 59:31-49.

- Cerda-Flores RM, MC Villalobos-Torres MC, HA Barrera-Saldaña HA, Cortes-Prieto LM, Barajas LO, Rivas F, Carracedo A, Zhong Y, Barton SA, Chakraborty R. 2001. Genetic admixture in three Mexican Mestizo populations based on D1S80 and HLA-DQA1 loci. *Am J Hum Biol* (en proceso).
- Chakraborty R, Jin L. 1992. Heterozygote deficiency, population substructure and their implications in DNA fingerprinting. *Hum Genet* 88:267-272.
- Chakraborty R, Weiss KM. 1988. Admixture as a tool for finding linked genes and detecting that difference from allelic association between loci. *Proceedings of the Academy of Sciences, USA* 85:9119-9123.
- Chakraborty R, Stivers DN. 1998. Further response to Mueller and Thompson- Considerations on the tests of independence of alleles that are relevant for forensic applications. *J Forensic Sci* 43:448-449.
- Chakraborty R. 1986. Gene admixture in human populations: models and predictions. *Yearbook Physical Anthropol* 29:1-43.
- Crawford M, Workman PL, McLean, Lees FC. 1976. Admixture estimates and selection in Tlaxcala. In: Crawford M, editor. *The Tlaxcaltecs, Prehistory, Demography, morphology and genetics. Publications in Anthropology* 7. Lawrence, Ks.: University of Kansas, 161-168.
- DEPD. 1978. Dirección de Estadística y Procesamiento de Datos del Gobierno de Nuevo León. *Cifras de Nuevo León*. Monterrey, Nuevo León, México.

- Edwards A, Hammond H, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R. 1992. Genetic variation at five trimeric and tetrameric repeat loci in four human population groups. *Genomics* 12:241-253.
- Elston R C. 1971. The estimation of admixture in racial hybrids. *Ann Hum Genet* 35:9-17.
- Evett IW, Gill P. 1991. A discussion of the robustness of methods for assessing the evidential value of DNA single locus profiles in crime investigations. *Electrophoresis* 12:226-30.
- Gamero JJ, Romero JL, Gonzalez JL, Arufe MI, Cuesta MI, Corte-Real F, Carvalho M, Anjos MJ, Vieira DN, Vide MC. 2000. *For Sci Int* 110:167-177.
- Guo SW, Thompson EA. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.
- Krane DE, Allen RW, Sawye SA, Petrov DA, Hartl DL. 1992. Genetic differences at four DNA typing loci in Finnish, Italian, and mixed Caucasian populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89:10583-7.
- Jones DA. 1972. Blood samples: probability of discrimination. *J Forensic Sci Soc* 19:355-359.
- Li CC. 1976. *First course in population genetics*. Pacific Grove, CA: The Boxwood Press.
- Lisker R. 1981. *Estructura genética de la población Mexicana: Aspectos médicos y antropológicos*. México: Salvat Mexicana de Ediciones.
- Lisker R, Babinsky V. 1986. Admixture estimates in nine Mexican Indian groups and five east coast localities. *Rev Invest Clin* 38:145-149.

- Montemayor-Hernández A. 1971. Historia de Monterrey. Asociación de Editores de Monterrey, AC, México.
- National Research Council II. 1996. The Evaluation of Forensic DNA Evidence. National Academy Press. Washington, D.C.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Ohno Y, Sebetan IM, Akaishiy S. 1982. A simple method for calculating the probability of excluding paternity with any number of codominant alleles. *Forensic Sci. Int* 19:93-98.
- Rangel-Villalobos H, Rivas F, Torres-Rodríguez M, Jaloma-Cruz AR, Gallegos-Arreola MPO, López-Satow J, Cantú JM, Figuera LE. 1999. Allele frequency distributions of six- Amp-FLPS (D1S80, APO-B, VWA, TH01, CSF1PO and HPRTB) in a Mexican population. *Forensic Sci Intl* 105:125-129.
- Roff DA, Bentzen P. 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Molec Biol Evol* 6:539-545.
- Shriver MD, Smith MW, Jin L, Marcini A, Akey JM, Deka R, Ferrell RE. 1997. Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *Am J Hum Genetics* 60:957-964.
- Ward RH, Sing CF. 1970. A consideration of the power of the X^2 test to detect inbreeding effects in natural populations. *Am Natur* 104:355-365.
- Weir BS. 1996. Multiple tests. In: Genetic data analysis. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, 109-110.

Zaykin D, Zhivotovsky L, Weir BS. 1995. Exact tests for association between alleles at arbitrary numbers of loci. *Genetics* 96:169-178.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 5

DISTRIBUCION DE LOS MARCADORES MOLECULARES DEL CROMOSOMA Y

RESUMEN

La población Mestiza Mexicana deriva de tres poblaciones antecesoras: Europea (Española), Amerindia y Africana. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) analizar tres STRs-Y (DYS391, DYS390 y DYS389I), 2) analizar dos marcadores específicos del cromosoma Y: Una inserción del elemento Alu (YAP or DYS287) y el SNP DYS199 (C-T) y 3) calcular la contribución de las poblaciones antecesoras Mexicanas utilizando las repeticiones tetranucleotídicas DYS391, DYS390, y DYS389I. Setenta y un hombres Mexicanos que residían en el Estado de Nuevo León, México, se agruparon de acuerdo al lugar de nacimiento del abuelo paterno en cuatro zonas. La diversidad haplotípica observada fue de 0.89 para los tres STRs-Y. Con las frecuencias alélicas obtenidas, se realizó una medición del grado de contribución ancestral mediante el método de máxima verosimilitud, obteniendo un modelo trihíbrido para Españoles, Amerindios y Africanos: 99.01%, 0.01%, and 0.98%, respectivamente y un modelo dihíbrido para Españoles y Amerindios con las siguientes proporciones: 99.99% and 0.01%, respectivamente. Todos los hombres mostraron la ausencia de la inserción Alu (o sea todos fueron YAP-) y 61 (85.9%) fueron DYS199C y 10 (14.1%) fueron DYS199T. La frecuencia del marcador DYS199 tuvo una distribución homogénea en las cuatro zonas. Estos resultados y el hecho de que en un previo estudio realizado donde se encontró que

el 100% de los haplotipos del DNAmT eran de origen Amerindio nos indica que el apareamiento fue entre mujeres Amerindias y hombres con origen Español y en un menor grado con Amerindios y Africanos en el Noreste de México.

INTRODUCCION

Los Mexicanos forman una población Mestiza derivada de tres fuentes principales: Europea (Española), Amerindia y Africana.

El Estado de Nuevo León, en el Noreste de México (que también incluye los Estados de Nuevo León, Coahuila, Tamaulipas, San Luis Potosí y Zacatecas) tiene un área de 64,555 Km² y para el año 2000 una población de 3,826,240 habitantes (Figura 1). Es una población joven, el 83.8% es menor a los 44 años de edad (Censo 2000).

Las poblaciones del Noreste de México son similares en términos de las contribuciones de Españoles, Amerindias y Africanas. Más del 96% de la diversidad genética total (G_{ST}) puede ser atribuida a la variación individual dentro de la población definida por sexo y lugar y año de nacimiento. No existe asociación no-aleatoria de los alelos entre los marcadores genéticos moleculares y no-moleculares a pesar del origen Mestizo de esta población (Cerdeña-Flores y cols. 1991, 2001).

Los segmentos específicos de los mamíferos masculinos del cromosoma Y no tienen una contraparte homóloga, no se recombina, tiene todos sus genes en desequilibrio de ligamiento y su modo de transmisión es por

línea paterna. A este respecto, es el DNAm equivalente en los machos. Por el contrario, los genes específicos del cromosoma Y son haploides, mientras que los genes mitocondriales son poliploides y la tasa de mutación del DNA del cromosoma Y es mucho más baja que la del DNAm (Bianchi y Cols., 1998). Son raros los polimorfismos en la secuenciación del cromosoma Y (Dorit y Cols. 1995, Hammer y Horai 1995, Whitfield y Cols. 1995). Por lo general, los haplotipos de cromosoma Y tienden a tener una distribución de localización geográfica (Mathias y Cols. 1994, Spurdle y Cols. 1994, Jobling 1994, Seielstad y Cols. 1994, Hammer and Horai 1995, Pena y Cols. 1995, Santos y Cols. 1996, Underhill y Cols. 1996). También los polimorfismos específicos del cromosoma Y no están restringidos para los polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs) o en la inserción/ deleción de los polimorfismos (Ciminelli y Cols. 1995, Kayser y Cols. 1997). La especificidad poblacional de los microsatélites ligados al cromosoma Y puede proporcionar una eficiente detección y estimación del flujo genético masculino en las poblaciones Mestizas. Por lo tanto, los polimorfismos específicos del cromosoma Y han llegado a ser una herramienta muy importante para detectar y estimar el impacto del apareamiento direccional en los niveles de mezcla en las poblaciones Mestizas.

Underhill y Cols. (1997) identificaron 19 nuevas secuencias polimórficas, la mayoría de ellas son específicas de las poblaciones. Tales marcadores son los más recomendados para estimar la contribución de la mezcla mediada por hombres en las poblaciones. Los haplotipos para los marcadores YAP, DYS19 y STS35 son específicos de las poblaciones antecesoras Europea, Amerindia y Africana.

Para los propósitos de este estudio se tipificaron en 71 hombres Mestizos Mexicanos del Noreste: tres STRs-Y (DYS391, ~~DYS390~~ y ~~DYS389I~~), el marcador YAP o ~~DYS287~~ (un elemento polimórfico de la familia Alu) y el SNP ~~DYS199~~ (C-T).

OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio fueron:

1. Analizar tres STRs del cromosoma Y: ~~DYS391, ~~DYS390~~ y ~~DYS389I~~~~.
2. Analizar dos marcadores de DNA específicos del cromosoma Y: Un elemento de inserción de la familia Alu (YAP or ~~DYS287~~) y un cambio de base simple (C-T para el marcador ~~DYS199~~).
3. Utilizar la contribución de las poblaciones antecesoras en esta población masculina Mexicana utilizando tres repeticiones tetranucleótidas: ~~DYS391, ~~DYS390~~ y ~~DYS389I~~~~.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Descripción de la muestra. La muestra de México de esta población fue obtenida por medio de una investigación de la región de los estados mexicanos. Los datos que contienen los estados responsables. Los datos fueron obtenidos del Instituto Mexicano de Estadística y Censos (INEGI) en 1990.

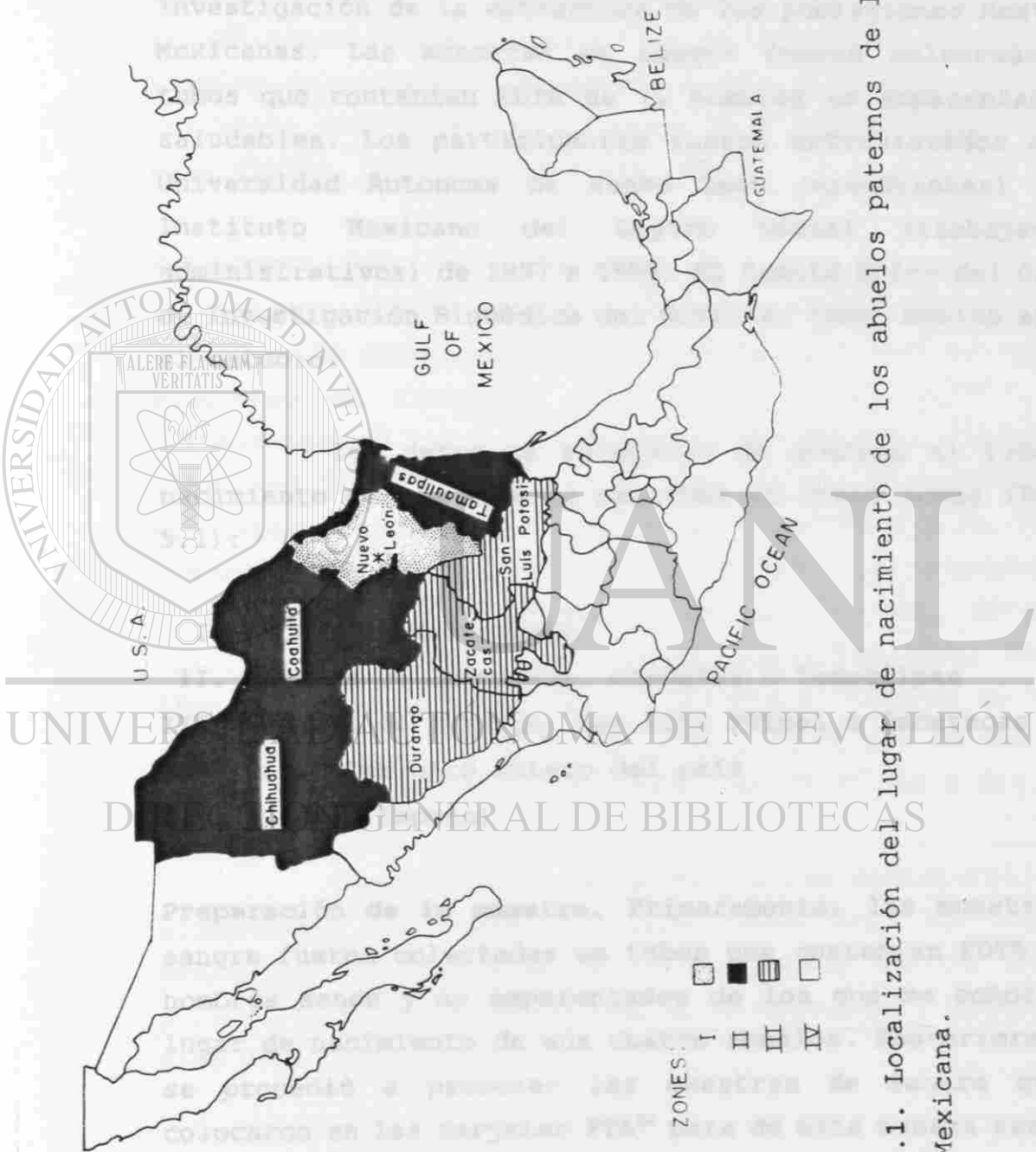


Figura 5.1. Localización del lugar de nacimiento de los abuelos paternos de la población Mestiza Mexicana.

MATERIAL Y METODOS

Descripción de la muestra. La información genética de esta población fue colectada como parte de una gran investigación de la estructura de las poblaciones Mestizas Mexicanas. Las muestras de sangre fueron colectadas en tubos que contenían EDTA de 71 hombres no emparentados y saludables. Los participantes fueron entrevistados en la Universidad Autónoma de Nuevo León (estudiantes) y en Instituto Mexicano del Seguro Social (trabajadores administrativos) de 1997 a 1998. El Comité Etico del Centro de Investigación Biomédica del Noreste, IMSS, México aprobó el estudio.

Los datos se agruparon de acuerdo al lugar de nacimiento de los abuelos paternos en cinco zonas (Figura 5.1):

I. Estado de Nuevo León

II. Estados de Chihuahua, Coahuila o Tamaulipas

III. Estados de Durango, San Luis Potosí o Zacatecas

IV. Cualquier otro Estado del país

V. Europa (España)

Preparación de la muestra. Primeramente, las muestras de sangre fueron colectadas en tubos que contenían EDTA de 71 hombres sanos y no emparentados de los que se conocía el lugar de nacimiento de sus cuatro abuelos. Posteriormente, se procedió a procesar las muestras de sangre que se colocaron en las tarjetas FTA™ para de esta manera realizar la amplificación del DNA mediante la PCR. Cuando la sangre se coloca en las tarjetas FTA, las células son lisadas y el

DNA del núcleo de los linfocitos son inmovilizados dentro de la matriz de la tarjeta. El DNA unido puede entonces ser purificado mediante un sencillo lavado eliminando el grupo Hemo y otros inhibidores de la reacción de amplificación de la PCR. Después de este procedimiento, las tarjetas FTA con el DNA inmovilizado se amplifica directamente mediante la adición de la mezcla de amplificación apropiada (FTA™ es una marca exclusiva con licencia de Flinders Technologies para FITZCO, Inc., Maple Plain, MN).

Marcadores STR del cromosoma Y. Los tres loci STR específicos del cromosoma Y fueron: DYS391, DYS390, and DYS389-I. La genotipificación de estos tres loci se realizó siguiendo el protocolo de Kayser y Cols. (1997). Los primers para el locus DYS389 amplifican dos loci duplicados (389I and 389II). Todas las sondas sentido fueron marcadas con fluorescencia. Las reacciones de PCR Multiplex fueron llevadas a cabo utilizando 5 ng de DNA, 10 picomoles de cada sonda, 200 μ m de dNTPs, 10mM de Tris HCL, 50 mM de KCl, 1.5 mM de MgCl₂, y 1 μ de Ampli Taq Gold (Perkin Elmer). Las condiciones de la PCR (ciclos) fueron 95 °C por 10 min, 29 ciclos a 94 °C por 1 min, 55 °C por 30 sec y 72 °C por 2 min y una extensión final de 72 °C por 5 min.

Los productos de la PCR fueron desnaturalizados acompañados del tamaño estandar (Gene Scan 500 ROX) en presencia de formamida y se corrieron en un gel de polycrilamida al 4% utilizando un secuenciador automatizado para DNA.

Análisis de YAP y DYS199. El marcador YAP (Spurdle y Cols. 1994) y el locus DYS199 fueron incluidos en este estudio. El polimorfismo de YAP fue tipificado mediante una sola amplificación por PCR utilizando el procedimiento indicado por Hammer and Horai (1995). El locus DYS199 fue tipificado mediante una PCR específica para el alelo utilizando el procedimiento indicado por Underhill y Cols. (1996).

Todas las genotipificaciones se basaron en la PCR. Se siguió el procedimiento de la PCR 'touchdown' (Don y Cols. 1991) para realizar las amplificaciones específicas. Todas las reacciones de PCR se condujeron en una PE 9600 (Perkin Elmer, Forest City) para asegurar la calidad.

Para la tipificación de YAP (una PCR regular) y de DYS199 (PCR específica del alelo) los productos de la PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 1%. Las imágenes fueron fotografiadas mediante una cámara digital (Kodak DC-40); los tamaños de los fragmentos fueron evaluados y la información de todo el gel fue almacenado en forma electrónica.

Análisis Estadístico. Las frecuencias alélicas se calcularon mediante el procedimiento de conteo génico a partir de los fenotipos observados.

Los marcadores STR del cromosoma Y. Los haplotipos fueron definidos mediante el tamaño de la repetición de los alelos para cada uno de los tres loci examinados. Para cada uno de los loci, tres mediciones de polimorfismo fueron calculadas a partir de las frecuencias alélicas: 1) el

número de alelos que segregaron, diversidad génica (estimador insesgado) y la varianza del tamaño del alelo. La diversidad haplotípica se basó en el estimado de Nei (1987).

Los porcentajes de contribución de las poblaciones antecesoras para esta población Mestiza se calcularon mediante el método de Elston (1971), cada grupo fue considerado el producto de la mezcla de las poblaciones antecesoras: Europea, Amerindia y Africana. Las frecuencias alélicas de estas poblaciones ancestrales fueron recopiladas de literatura (de Knijff y Cols. 1997).

Los marcadores YAP y *DYS199*. Para analizar la homogeneidad entre las zonas de nacimiento de los abuelos paternos de los 71 individuos, se utilizó la prueba exacta RxC que generó el estadístico G que incluyó 1000 replicaciones (Roff y Bentzen, 1989 and Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS y DISCUSION

La Tabla 5.1 muestra las frecuencias alélicas para los tres loci STR del cromosoma Y en esta población Mexicana.

La Tabla 5.2 muestra los valores estimados de mezcla basados en tres STRs. En el presente estudio se consideraron dos modelos de mezcla: dihíbrido y el trihíbrido. Las poblaciones antecesoras fueron la Europea, Amerindia y Africana. Esta población tuvo una contribución principalmente de origen masculino Europeo (99%) y el resto de Amerindio y Africano (1%).

En la Tabla 5.3 se observan los valores para los tres loci STR del cromosoma Y: DYS391, DYS390 y DYS389-I. El número de alelos que segregaron fueron 3, 4 y 3, la diversidad génica insesgada fue 0.55, 0.63 y 0.53 y la varianza del tamaño del alelo 0.33, 0.39 y 0.61, respectivamente. La diversidad haplotípica se basó en el estimado de Nei (1987). En la Tabla 5.4 se observa la distribución haplotípica de estos tres cromosomas Y. Se encontraron 21 haplotipos siendo los más frecuentes los haplotipos para DY(389I-390-391): 13-24-10 (19.7%) y 13-24-11 (19.7%). Siendo la diversidad haplotípica de Nei de 0.8938 lo que lo hace un sistema altamente polimórfico (para ser polimórfico debe de ser mayor al 0.70).

La distribución por zonas del lugar de nacimiento de los abuelos paternos para los locus YAP y DYS199 se muestran en la Tabla 5.5. De los 71 cromosomas analizados; 61 (85.9%) fueron DYS199C y 10 (14.1%) fueron DYS199T. Esta mutación es encontrada en las poblaciones Amerindias lo que constata la mínima participación de las poblaciones Amerindias.

Todos los hombres presentaron ausencia de la inserción Alu para el locus YAP (o sea todos fueron YAP-). Este marcador de alguna manera confirma la mínima contribución de la población ancestral Africana en estas poblaciones Mestizas Mexicanas.

Los modelos dihíbrido y trihíbrido mostraron una mayor contribución Europea (99%) y una menor contribución de las poblaciones Amerindias y Africanas para el cromosoma

Y. Estos resultados son totalmente diferentes al estudiarse los marcadores del DNAm_t así como los del DNA nuclear.

CONCLUSION GENERAL

Con estos resultados (distribuidos del Capitulo 2 al 5) podemos confirmar la hipótesis general de este trabajo de tesis doctoral: son diferentes los porcentajes de mezcla genética por líneas maternas y paternas de las poblaciones Española, Amerindia y Africana para esta población Mestiza Mexicana (al ser utilizados los marcadores moleculares del DNA nuclear, DNAm_t y DNA del cromosoma Y, por separado), y dado lo anterior se confirma que la población Mestiza Mexicana se derivó primordialmente del apareamiento de mujeres Amerindias con hombres principalmente de origen Español y en un menor grado Amerindios y Africanos. Todos estos resultados serán de gran utilidad en los campos de la genética de poblaciones, evolución molecular, mapeo cromosómico y análisis de ligamiento, pruebas de paternidad, análisis forense, aplicaciones médicas y aspectos antropológicos.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 5.1. Frecuencias alélicas de tres loci STR del cromosoma Y en una población Mestiza Mexicana del Noreste y tres poblaciones antecesoras (de Knijff y Cols. 1997).

Alelo	Noreste	Europea	América	Africana
DYS391				
8	0	0	0	3.2
9	4.7	2.3	4	12.5
10	47.9	55.2	64.3	45.2
11	47.9	40.3	29.7	35.8
12	0	2	2	3.2
13	0	0.2	0	0
N	71	561	101	31
DYS390				
18	0	0	0	0.7
19	0	0	0	0
20	0	0.2	0	0.7
21	0	3.3	15.8	53.1
22	7.1	13.4	19.8	10.2
23	24.5	28.1	26.7	13.6
24	54.3	37.7	29.6	12.5
25	14.3	14.1	7.9	9.8
26	0	2.9	0	0
27	0	0.3	0	0
N	71	1046	101	147
DYS389I				
10	0	0	0	0.7
11	1.4	0.4	0	4.4
12	19.7	22.3	11	20.6
13	64.8	55.1	67	58.1
14	14.1	15	21	14.7
15	0	0.2	1	1.5
N	71	538	101	138

Tabla 5.2. Porcentaje de contribución de las poblaciones antecesoras en las poblaciones Mestizas Mexicanas del Noreste.

Modelo	Población Ancestral:	Noreste
Dihíbrido	Europea	99.99 ± 18.00
	Amerindia	0.01 ± 18.00
Trihíbrido	Europea	99.01 ± 18.21
	Amerindia	0.01 ± 18.24
	Africana	0.98 ± 5.57

Tabla 5.3. Estadísticas resumidas de tres loci STRs del cromosoma Y en una población Mestiza Mexicana.

Estadísticas	DYS391	DYS390	DYS389-I
n	71	71	71
Número de alelos	3	4	3
Diversidad génica*	0.55	0.63	0.53
Varianza del tamaño de la repetición	0.33	0.61	0.39

n: número de hombres.

* Nei 1987

Tabla 5.4. Distribución haplotípica de los tres marcadores del cromosoma Y.

DYS389-I	DYS390	DYS391	Frecuencia	Porcentaje
11	24	10	1	1.4
12	22	10	5	7
12	23	10	2	2.8
12	23	11	1	1.4
12	24	10	2	2.8
12	24	11	3	4.2
12	25	10	1	1.4
13	23	10	2	2.8
13	23	11	7	9.9
13	24	9	1	1.4
13	24	10	14	19.7
13	24	11	14	19.7
13	25	9	1	1.4
13	25	10	3	4.2
13	25	11	4	5.6
14	23	10	3	4.2
14	23	11	2	2.8
14	24	9	1	1.4
14	24	10	1	1.4
14	24	11	2	2.8
14	25	11	1	1.4

Diversidad haplotípica = 0.8938 (Nei 1987)

Tabla 5.5. Distribución de la zona de nacimiento de los abuelos paternos y DYS199 en una población Mestiza Mexicana.

DYS199 (C-T)	Zona de nacimiento de los abuelos paternos					Total (%)	Amerindia** (%)
	I	II	III	IV	V		
C	22	14	13	10	2	61 (85.9)	16 (29.1)
T	4	0	4	2	0	10 (14.1)	39 (70.9)
Total	26	14	17	12	2	71	55

*Zona I. Estado de Nuevo León

Zona II. Estados de Chihuahua, Coahuila y Tamaulipas

Zona III. Estados de Durango, Zacatecas y San Luis Potosí

Zona IV. Resto de los Estados de México

Zona V. Europa (Abuelos de España)

** Indios Mexicanos (Maya, Mixe, Mixteca y Zapoteca): Bianchi y Cols., 1998

$G_{I-IV} = 5.42, p = 0.241$

BIBLIOGRAFIA

- Bianchi NO, Catanesi CI, Bailliet G, Martinez-Marignac VL, Bravi CM, Vidal-Rioja LB, Herrera RJ, Lopez-Camelo JS. 1998. Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes New World native populations. *Am J Hum Genet* 63:1862-1871.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am J Hum Genet* 32:314-331.
- Censo, 2000. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. XII Censo General de Población y Vivienda. México, DF: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática; 2000.
- Cerda-Flores RM, Kshatriya GK, Barton SA, Leal-Garza CH, Garza-Chapa R, Schull WJ, Chakraborty R. 1991. Genetic structure of the population migrating from San Luis Potosí and Zacatecas to Nuevo León in México. *Hum Biol* 63:309.
- Cerda-Flores RM, MC Villalobos-Torres MC, HA Barrera-Saldaña HA, Cortes-Prieto LM, Barajas LO, Rivas F, Carracedo A, Zhong Y, Barton SA, Chakraborty R. 2001. Genetic admixture in three Mexican Mestizo populations based on D1S80 and HLA-DQA1 loci. *Am J Hum Biol* (en proceso).
- Chakraborty R. 1985. Gene identity in racial hybrids and estimation of admixture rates. IN: *Genetic Microdifferentiation: Human and Other Populations*. Y.R. Ahuja and J.V. Neel, eds. New Dehli: Indian Anthropological Association, p. 171.

Ciminelli BM, Pompei F. 1995. Recurrent simple tandem repeat mutations during human Y-chromosome radiation in Caucasian subpopulations. *J Mol Evol* 41:966-973.

de Knijff P, Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, Gehrig C, Graziosi G, Heidorn F, Herrmann S, Herzog B, Hidding M, Honda K, Jobling M, Krawczak M, Leim K, Meuser S, Meyer E, Oesterreich W, Pandya A, Parson W, Penacino G, Perez-Lezaun A, Piccinini A, Prinz M, Roewer L, y Cols.. 1997. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. *Int J Legal Med.*110:134-49.

Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS. 1991. 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acid Res* 19:4008.

Dorit RL, Akashi H, Gilbert W. 1995. Absence of polymorphism at the ZFY locus on the human Y chromosome. *Science* 268:1183-1185.

Elston R C. 1971. The estimation of admixture in racial hybrids. *Ann Hum Genet* 35:9-17.

Hammer MF, Horai S. 1995. Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan. *Am J Hum Genet* 56:951-962.

Jobling MA. 1994. A survey of long-range DNA polymorphisms on the human Y chromosome. *Hum Mol Genet* 3:107-114.

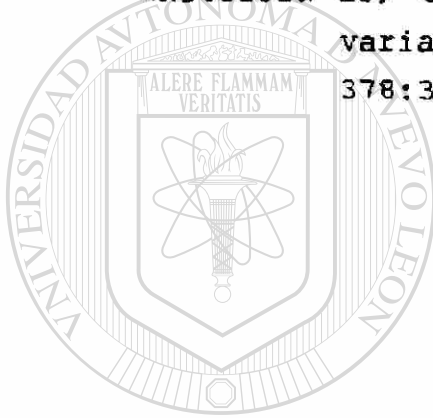
Kayser M, Caglia A, Corach D, Fretwell N, y Cols. 1997. Evaluation of Y-chromosomal STRs: A multicenter study. *Int J Legal Med* 110:125-133.

- Mathias N, Bayes M, Tyler-Smith C. 1994. Highly informative compound haplotypes for the human Y chromosome. *Hum Mol Genet* 3:115-123.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University.
- Pena SDJ, Santous FR, Bianchi NO, Bravi CM, Carnese, FR, Rothhammer F, Gerelsikhan T, Munkhtuja B, Oyunsuren T. 1995. A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. *Nature Genet* 11:15-16.
- Roff DA, Bentzen F. 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Molec Biol Evol* 6:539-545.
- Santos FR, Rodriguez-Delfin L, Pena SD, Moore J, Weiss KM. 1996. North and South Amerindians may have the same major founder Y chromosome haplotype. *Am J Hum Genet* 58:1369-1370.
- Seielstad MT, Herbert JM, Lin AA, Underhill PA, Ibrahim M, Vollrath D, Cavalli-Sforza LL. 1994. Construction of human Y-chromosomal haplotypes using a new polymorphic A to G transition. *Hum Mol Genet* 3:2159-2161.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1981. *Biometry*, 2nd Edition. W.J. Freeman and Co., San Francisco.
- Spurdle AB, Hammer MF, Jenkins T. 1994. The Y Alu polymorphism in Southern African Populations and its relationship to other Y-specific polymorphisms. *Am J Hum Genet* 54:319-330.

Underhill PA, Jin L, Zemans R, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL (1996) A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. Proc Natl Acad Sci USA 93:196-200.

Underhill PA, Jin L, Lin AA, Mehdi SQ, Jenkins T, Davis RW, Cavalli-Sforza LL, Oefner PJ. 1997. Detection of numerous Y chromosome simple sequence polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. Genome Res 7:996-1005.

Whitfield LS, Sulston JE, Goodfellow PN. 1995. Sequence variation of the human Y chromosome. Nature 378:379-380.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

VITA

Ricardo M. Cerda-Flores was born on January 23, 1958 in Monterrey, México to Amelia Josefa Flores-Garcia and José Sergio Cerda-Olvera.

He was accepted by Universidad Autonoma de Nuevo León from which he received a Bachelor of Science Degrees in Biology in 1981 and a Master of Science Degrees in Genetics in 1984. Cerda-Flores was then enrolled in the Doctor of Science program of the Universidad Autonoma de Nuevo León (UANL) before he came to the Center for Demographic and Population Genetics of The University of Texas Health Science Center at Houston to finish his doctoral dissertation in 2001.

He is actually a researcher in the department of Population Genetics in the Centro de Investigación Biomedica del Noreste, IMSS in Monterrey since 1981 and a professor in the Graduate School of the Facultad de Ciencias Biologicas, UANL since 1984.

His research interests and publications can be find in the next WEB page:

<http://home.talkcity.com/CapitolDr/ricardocerda/>
E-mail: ricardocerda@hotmail.com

RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

Ricardo M. Cerda Flores

Candidato para el Grado de
Doctor en Ciencias Biológicas
(Biología Celular y Genética)

Datos personales:

Nacido en Monterrey, Nuevo León, el 23 de Enero de 1958,
hijo de la Sra. Amelia Josefa Flores-Garcia
(QPD) y Sr. José Sergio Cerda-Olvera (QPD).

Educación:

Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

Grado obtenido: Biólogo 1981.

Facultad de Ciencias Biológicas, UANL

Grado obtenido: Maestro en Ciencias Biológicas 1984.

Experiencia profesional:

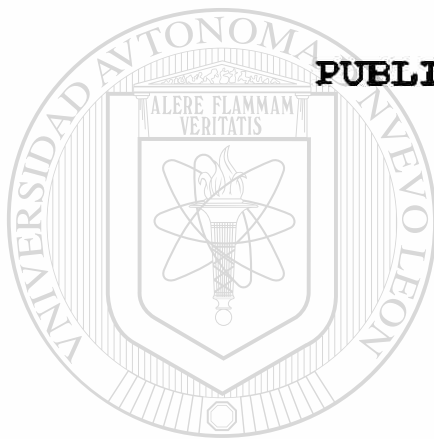
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La Grange Ln

<http://home.talkcity.com/GapitePr/ricardocerda/>

E-mail: ricardocerda@hotmail.com

APENDICE



**PUBLICACIONES GENERADAS CON LA
PRESENTE TESIS
(ENVIADAS A PUBLICAR)**

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

THE UNIVERSITY OF TEXAS



HOUSTON

HEALTH SCIENCE CENTER

School of Public Health
Human Genetics Center

13 April 2001

Dr. Robert M. Malina
Department of Kinesiology
Michigan State University
East Lansing, MI 48824-1049

Dear Bob:

Enclosed please find a manuscript entitled, "Genetic admixture in three Mexican Mestizo populations based on D1S80 and HLA-DQA1 loci" that I am submitting on behalf of all co-authors of this paper. As requested an original and three paper copies, as well as a disk file (CERDA.DOC) are enclosed of this manuscript

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Sincerely,

Ranajit Chakraborty, Ph.D.
Allan King Professor

Encl.

Cc: All co-authors

THE UNIVERSITY OF TEXAS



HOUSTON

HEALTH SCIENCE CENTER

School of Public Health
Human Genetics Center

13 April 2001

Stephen T. Warren, Ph.D.
The American Journal of Human Genetics
Emory University School of Medicine
1462 Clifton Rd., Room B28
Atlanta, GA 30322-3050

Dear Dr. Warren:

Enclosed please find a Letter to the Editor entitled, "Absence of European and African mtDNA lineages in Mexican Mestizos".

The first author, Ricardo Cerda-Flores is a student completing his Ph.D. this month, but not a member of the American Society of Human Genetics.

I will be responsible for communication among authors:

Ranjit Chakraborty, Ph.D.
Allen King Professor
Human Genetics Center
School of Public Health
University of Texas
PO BOX 20186
Houston, TX 77225
Telephone: 713-500-9820, fax 713-500-0900
Email: rchakraborty@sph.uth.tmc.edu

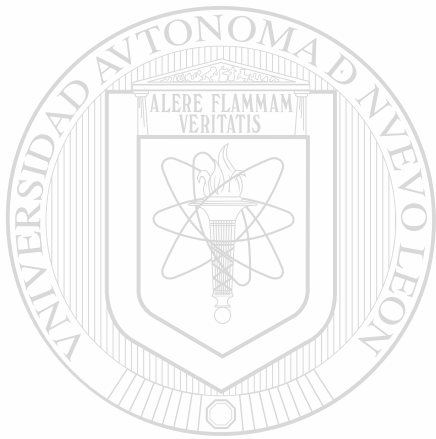
Although you are free to choose reviewers of your choice, as per the journal instructions we suggest the following names: Professor Robert E. Ferrell (Univ. of Pittsburgh, PA), Professor David Nelson (Baylor College of Medicine, Houston), Dr. Chris Tyler-Smith (Oxford), and Prof. Kenneth M. Weiss (Penn. State University, PA). In view of the fact that other groups are also working on this subject, an early response about the suitability of this work for publication would be greatly appreciated. Four paper copies and an electronic copy is enclosed.

Sincerely,

Ranjit Chakraborty, Ph.D.
Allen King Professor

Encl.

Cc: All authors



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



