



ASOCIACIÓN ENTRE ORIGEN ANCESTRAL Y BAJOS NIVELES DE HDL EN UNA POBLACIÓN CON ALTO MESTIZAJE

Jimena Fritz Hernández

Maestría En Ciencias
De La
Salud

Epidemiología

Generación 2008-2010

Cuernavaca, Morelos

Diciembre 2010

COMITÉ DE TESIS

Director

Dr. Ruy López Ridaura

Epidemiología

Asesor

Dr. Héctor Lamadrid Figueroa

Bioestadística

Asesor

Dra. Shweta Choudhry

Epidemiología

Para citar este artículo puede utilizar el siguiente formato:

Jimena Fritz Hernández (2018): "Asociación entre origen ancestral y bajos niveles de HDL en una población con alto mestizaje.", Revista Caribeña de Ciencias Sociales (mayo 2018). En línea: [//www.eumed.net/rev/caribe/2018/05/origen-ancestral-niveleshdl.html](http://www.eumed.net/rev/caribe/2018/05/origen-ancestral-niveleshdl.html)

Resumen

Introducción

México cuenta con una gran prevalencia de dislipidemias, siendo las bajas concentraciones de colesterol HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad) una de las más frecuentes. Esta patología, también llamada hipoalfalipoproteinemia (<40 mg/dL) supone un aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares.

La población mexicana se ha caracterizado por su elevado mestizaje, con un porcentaje de ancestralidad amerindia del 66%, así como europea del 32% y africana del 2% aproximadamente, encontrado en estudios previos. Tomando en cuenta la complejidad de esta mezcla ancestral, la población mexicana es ideal para esclarecer los efectos genéticos, sociales y ambientales en los eventos de la salud en las diferentes poblaciones.

Justificación

En la actualidad no se ha logrado encontrar una causa específica de las bajas concentraciones de HDL en la población mexicana, las cuales determinan una asociación con enfermedades metabólicas. Este tipo de estudio aportará consistencia para fundamentar el componente genético que se relaciona con la ancestralidad amerindia y determina las bajas concentraciones de HDL de la población mexicana.

Objetivos

Identificar el grado de mezcla genética en una submuestra representativa de la población mexicana, así como estimar la asociación de las bajas concentraciones de HDL con la proporción de ancestralidad en esta submuestra.

Metodología

Se realizará un estudio observacional transversal analítico y retrospectivo basado en datos de la Encuesta Nacional de Salud 2000 (ENSA 2000). Se llevará a cabo un análisis secundario de una submuestra compuesta por 2,172 sujetos, de quienes se obtuvo información sobre diferentes variables de interés por medio de cuestionarios así como muestras biológicas para determinar concentraciones de HDL.

Para estudiar la diferencia de proporción de ancestralidad se utilizarán los *AIMs* (Ancestry Informative Markers). Éstos son marcadores genéticos que proveen información de ancestralidad a partir de las submuestras del banco de ADN de la ENSA 2000.

A partir de la medición de ancestralidad mediante *AIMs*, el porcentaje de mestizaje en la población (amerindio, africano y europeo) se estimará por medio de estadísticas Bayesianas, utilizando el paquete estadístico STRUCTURE. Para evaluar la asociación entre ancestralidad y los momios de contar con HDL baja, se ajustarán modelos de regresión logística con el porcentaje de ancestralidad amerindia como variable explicativa.

Con la información obtenida en este estudio, se podría realizar posteriormente una búsqueda más específica para estimar asociaciones de diversos genes con la presencia de concentraciones bajas de HDL por medio del método de *admixture mapping*. Éste es el primer método experimental que se acerca a recrear el genoma humano, para identificar los genes implicados en la hipoalfalipoproteinemia.

Resultados esperados e impacto

Se espera encontrar que la proporción de ancestralidad amerindia se asocia con bajas concentraciones de colesterol de alta densidad. De tal manera que la presencia de ancestralidad amerindia define genes que provocan estas bajas concentraciones de HDL en el organismo. La confirmación de esta información permitiría contar con un recurso suficiente para identificar y prevenir eficazmente enfermedades cardiovasculares y síndrome metabólico en personas que presentaran gran porcentaje de ancestralidad amerindia.

Lograr esto, constituiría un importante ahorro para el sistema de salud mexicano, además de sentar antecedentes de investigación en epidemiología genética para contar con una mayor consistencia sobre la literatura estudiada y publicada.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|-----------|
| 1. Introducción..... | 5 |
| 2. Antecedentes..... | 7 |
| 3. Planteamiento del problema..... | 9 |
| 4. Justificación..... | 10 |
| 5. Objetivos: | 10 |
| a. General..... | 10 |
| b. Específicos..... | 10 |
| 6. Marco Teórico..... | 11 |
| 7. Hipótesis..... | 13 |
| 8. Metodología..... | 14 |
| a. Antecedentes del diseño de la muestra..... | 14 |
| b. Población de estudio..... | 15 |
| c. Medición de variables..... | 17 |
| d. Poder Estadístico..... | 17 |
| e. Análisis Estadístico..... | 18 |
| 9. Limitaciones y sesgos..... | 19 |
| 10.Resultados esperados e impacto..... | 20 |
| 11.Plan de desarrollo..... | 21 |
| 12.Referencias Bibliográficas..... | 22 |

Introducción

Hipoalfalipoproteinemia

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en el mundo, así como en América Latina y en México según la OMS¹. Es por esto que se deben tener en consideración los aspectos relacionados con esta enfermedad, para lograr una efectiva prevención y tratamiento a corto plazo.

Los padecimientos cardiovasculares en la población mexicana se han convertido en la causa de muerte más frecuente entre la población adulta, de tal manera que en la actualidad una gran cantidad de recursos financieros y humanos se están destinando a la prevención y tratamiento de estos padecimientos, tanto en el sector público como en el sector privado. México, al igual que muchos países de América Latina, manifiesta una gran prevalencia de dislipidemias, caracterizada por una mayor frecuencia de las bajas concentraciones de colesterol HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad) y de elevadas concentraciones de triglicéridos. Las dislipidemias y las alteraciones en las lipoproteínas favorecen el desarrollo de ateromas, los cuales son la primera causa de infartos al miocardio.² Estos trastornos son también los principales causantes de enfermedades cardiovasculares y de síndrome metabólico. Se conoce que el sexo masculino y el estado posmenopáusico aumentan el riesgo de enfermedad coronaria y síndrome metabólico. Las mujeres tienen concentraciones de HDL más altas y concentraciones de LDL (Lipoproteínas de Baja Densidad) más bajas antes de la menopausia que los hombres de la misma edad.³ Un patrón lipoproteico favorable justifica parcialmente la protección frente a la aterosclerosis que confiere el estado premenopáusico. Parte de estos beneficios podrían explicarse por efectos directos de los estrógenos sobre la pared arterial. Los estudios acerca de las posibles acciones vasoprotectoras de los estrógenos y la utilización de tratamiento de sustitución estrogénica como estrategia antiaterógena en las mujeres posmenopáusicas prosiguen en la actualidad.³

Estudios epidemiológicos muestran que altas concentraciones de HDL (superiores a 60 mg/dL) tienen un carácter protector contra las enfermedades cardiovasculares como lo son la cardiopatía isquémica e infarto de miocardio. Por el contrario, bajas concentraciones de HDL (por debajo de 40 mg/dL) suponen un aumento del riesgo de estas enfermedades, especialmente para las mujeres, ya que la disminución de las HDL afecta el transporte reverso de colesterol, que es la vía metabólica responsable de la remoción del colesterol excedente de las células periféricas.⁴

La hipoalfalipoproteinemia corresponde a bajas concentraciones plasmáticas de colesterol HDL, esto es, concentraciones de HDL menores a 40 mg/dL.⁵ Entre las causas de hipoalfalipoproteinemia adquirida se encuentran factores genéticos, obesidad, diabetes mellitus, exceso de ingesta de ácidos grasos saturados, sedentarismo, tabaquismo, fármacos como los betabloqueantes, metildopa,

benzodiazepinas y probucol.^{5,6} Otra causa de este padecimiento es la hipoalfalipoproteinemia familiar aislada con herencia autosómica dominante, en la cual los pacientes tienen concentraciones de colesterol y triglicéridos totales normales o elevados, pero concentraciones de HDL bajas e historia familiar o personal de cardiopatía.⁶ Sin embargo aún no se ha dilucidado la causa exacta que explique la alta prevalencia de las bajas concentraciones de HDL entre la población mexicana.

Ancestralidad

La población mexicana contemporánea se ha caracterizado por su elevado mestizaje desde los inicios de la conquista de España, refugiados de las guerras mundiales, situaciones históricas, comercio de esclavos de África y las poblaciones originarias amerindias.⁷ Así, se han publicado diversos estudios sobre la proporción de ancestralidad encontrada en diferentes países. El mestizaje genético ha sido utilizado exitosamente para explicar las variaciones étnicas y raciales en diferentes enfermedades.^{7,8,9,13}

En las poblaciones altamente mestizas, para estudiar la diferente proporción de ancestralidad, se utilizan los *AIMs* (Ancestry Informative Markers, es decir marcadores informativos de ancestralidad)^A, los cuales son marcadores genéticos que proveen información en la ancestralidad y se pueden utilizar para demostrar las grandes diferencias que existen entre frecuencias sobre las poblaciones mundiales.⁸

El mayor control sobre los factores ambientales, así como sobre los *AIMs* en los estudios basados en poblaciones mestizas, proveen una herramienta eficiente y estadísticamente fuerte para acercarnos a la investigación del rol ambiental y los componentes genéticos que competen a diversas enfermedades.⁹

Para poder estudiar a las poblaciones mestizas y su asociación con diferentes patologías presentes en ellas se puede recurrir al método de *admixture mapping*¹⁰, el cual es el primer método experimental que se aproxima a recrear el genoma humano.^B Asimismo, se pueden rastrear los genes involucrados en enfermedades con bajas concentraciones de HDL mediante este método para encontrar genes que presentan variaciones étnicas con riesgo a la enfermedad, basándose en el estudio de poblaciones descendientes.¹¹ Esto a su vez, abrirá la puerta a nuevas investigaciones e intervenciones para encontrar la causa y prevención de estas enfermedades en las poblaciones más vulnerables.

El propósito de este estudio es evaluar, mediante modelos estadísticos, la asociación entre la proporción de cada una de las poblaciones ancestrales (europeo, amerindio y africano) con la variación en los concentraciones de HDL en una submuestra representativa de la población mexicana.

^{A,B} Para mayor información y definiciones consultar la sección de Marco Teórico.

Antecedentes

En un estudio publicado por Barquera S. y cols. (2007), realizado en una submuestra de la Encuesta Nacional de Salud (2000), encontraron una concentración media de HDL de 38.4 mg/dl (IC95% 37.2,39.5) en la población mexicana. La prevalencia encontrada de hipercolesterolemia (HC) fue de 40.5% en mujeres (IC95% 35.5,45.4) y de 44.6% en hombres (IC95% 37.7,51.4).¹² La hipoalfalipoproteinemia fue la más prevalente de las dislipidemias, presente en 64.7% (IC95% 58.7,70.8) de los hombres y 61.4% (IC95% 54.4,68.3) de las mujeres. Así mismo, Aguilar C. y cols. en los resultados de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas en el 2002, mencionan que la dislipidemia más común en los mexicanos es la hipoalfalipoproteinemia aún en individuos de peso normal.¹³

| Tabla 1. Prevalencia de dislipidemias en adultos mexicanos por edad. ENSA 2000 * | | | | | | |
|--|--------------------|---------------------------|-------------------|------------------------------|--------------|------|
| | | Colesterol >200mg/dl % | HDL <40mg/dl % | Triglicéridos >150mg/dl % | Mixto ^ % | |
| Mujeres ** | Total ⁺ | 40.5 | 64.7 | 45 | 8.3 | |
| | Grupo por edad | 20-29 | 22.1 | 75.7 | 30.4 | 7.1 |
| | | 30-39 | 43.4 | 65.6 | 49.9 | 12.3 |
| | | 40-49 | 58.6 | 62.9 | 51.7 | 6.1 |
| | | 50-59 | 64.6 | 43 | 73.9 | 12.2 |
| | | >60 | 69.2 | 34.7 | 65.2 | 5.9 |
| Hombres ** | Total ⁺ | 44.6 | 61.4 | 53.5 | 12.9 | |
| | Grupo por edad | 20-29 | 30.2 | 72.2 | 39 | 8.2 |
| | | 30-39 | 52.5 | 49.8 | 67.1 | 20.4 |
| | | 40-49 | 67.3 | 52.1 | 63.3 | 13 |
| | | 50-59 | 61.2 | 49.1 | 74.5 | 13.2 |
| | | >60 | 52.6 | 57 | 65.8 | 21.5 |

* Datos tomados de la tabla III del artículo: Barquera S. Dyslipidemias and obesity in Mexico. Salud Pública México. 2007; 49: pp 344.

** Los adultos contaban con 9-12hrs de ayuno. Las estimaciones se ajustaron por: edad, sexo, nivel socioeconómico, tabaquismo y por el diseño complejo de la encuesta.

^ Definido como: triglicéridos \geq 200mg/dl and HDL cholesterol $<$ 35mg/dl

+ Prevalencia en la población general por sexo.

Sin embargo a medida que la masa corporal aumenta, es más probable encontrar otros tipos de dislipidemia, en general combinados con hipoalfalipoproteinemia, aumentando el riesgo cardiovascular. Esto es similar a lo reportado en otros países.¹⁴

Villalpando S. y cols. encontraron que 20% de los sujetos con edades entre 10-19 años muestran en un 14.8% sobrepeso, 6.7% obesidad y 37.5% tenían una historia familiar de diabetes mellitus tipo2 (DM2), dentro de la misma submuestra de la ENSA 2000 realizada en México. Entre otros datos analizados, la media de concentraciones de glucosa, insulina, colesterol total (CT) y triglicéridos (TG) fueron significativamente mayores y los de cHDL (colesterol HDL) significativamente menores en los sujetos obesos, que en los que tenían índice de masa corporal (IMC) normal. Se observó una fuerte asociación entre la obesidad y el riesgo de tener altas concentraciones de glucosa, insulina, TG y CT y

bajas concentraciones de cHDL en jóvenes. Tales hallazgos confirman el riesgo que tienen los jóvenes obesos de presentar de manera concomitante anomalías propias del síndrome metabólico.¹⁵

Referente a la ancestralidad, existen diversos estudios realizados en México donde se muestra consistencia en la variación de mestizaje con la que cuenta la población mexicana. Bonilla C. y cols. (2005) realizaron un estudio en Tlapa Guerrero, utilizando *admixture mapping* con 24 *AIMs*, en donde encontraron una contribución de la población amerindia del 94.5%, europea 4.2% y africana 1.3%.¹⁶

En otro estudio dentro de la Ciudad de México, Martínez V. y cols. utilizando 69 *AIMs* en una población de 561 individuos con diabetes mellitus tipo 2, encontraron un porcentaje de ancestralidad en la población mexicana del 65% amerindia, 30% europea y 5% africana.¹⁷

En un estudio publicado por Salari K. y Choudhry S. en el 2005, comparando una muestra de mexicanos y puertorriqueños en E.U.A. y utilizando 44 *AIMs*, mostraron que los mexicanos cuentan con ascendencia amerindia en un 52%, europea en un 45% y africana en un 3%.¹⁸

En diferentes publicaciones se han presentado resultados de investigaciones que abordan la relación entre ancestralidad y algunas enfermedades. En otro estudio publicado por Choudhry S. y cols. (2006), en donde examinan una población mexicana y puertorriqueña en San Francisco, California con asma y utilizando 44 *AIMs*, comprueban la presencia de un porcentaje de ancestralidad del 51% de amerindios, 45.4% europeos y 3.7% africanos. En esta investigación también se demuestra que la prevalencia de asma en puertorriqueños es mucho más alta que en los mexicanos, correlacionándola con la ancestralidad puertorriqueña que es predominantemente europea (59.7%).¹⁹

| Tabla 2. % de ancestralidad encontrada en diversos estudios realizados en poblaciones de origen mexicano * | | | | | |
|--|------------------|-----------|---------|----------|------------|
| Autor | País del estudio | Amerindia | Europea | Africana | Referencia |
| Choudhry 2005 | E.U.A. | 52.0 | 45.0 | 3.0 | 18 |
| Bonilla 2005 | México | 94.5 | 4.2 | 1.3 | 16 |
| Choudhry 2006 | E.U.A. | 51.0 | 45.4 | 3.7 | 19 |
| Martínez 2007 | México | 65.0 | 30.0 | 5.0 | 17 |

* Datos obtenidos de la bibliografía.

En otro estudio publicado por Rodríguez C. (2002), estudiando poblaciones urbanas caucásicas, afroamericanas e hispanas en la ciudad de Nueva York, demuestra que los hispanos tenían concentraciones totales de colesterol y de cHDL menores en comparación con las otras poblaciones. Por el contrario, los individuos afroamericanos presentaban concentraciones de cHDL total mayores. Así mismo, la prevalencia de diabetes mellitus fue mayor entre los hispanos y afroamericanas.²⁰

Tull E. y cols. (2004), publicaron un estudio realizado en las Islas Vírgenes, sobre la consistencia encontrada en los individuos méxico-americanos, para presentar concentraciones de cHDL menores comparados con los individuos blancos no hispanos. Se encontró que los individuos afroamericanos

presentaron concentraciones de cHDL mayores y concentraciones de triglicéridos menores en comparación con los individuos de ascendencia hispana. Sin embargo, la causa de esta relación no se ha demostrado. Los individuos con ancestralidad europea tenían menor resistencia a la insulina y menores concentraciones de glucosa capilar comparados con los afroamericanos y los grupos hispánicos, como lo son los indios Pima.²¹

Los indios Pima son conocidos en los círculos científicos como uno de los grupos poblacionales de mayor peso corporal en el mundo. Investigadores de diversos institutos de salud en Estados Unidos los han estudiado por más de 35 años. Algunos adultos pesan más de 227kg y muchos adolescentes obesos sufren de diabetes mellitus.²² Aparentemente los indios Pima tienen una predisposición genética para ganar peso, así como para desarrollar diabetes mellitus y generar concentraciones de cHDL por debajo de los rangos normales. Es por esto, que numerosos investigadores tratan de encontrar el componente genético que determina las patologías en este grupo de amerindios.

Debido a que diversos estudios muestran consistencia sobre la relación entre ancestralidad y el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas, es importante continuar estudiando estas asociaciones para ayudar a descifrar los componentes genéticos involucrados en estas enfermedades. En el presente estudio se analizará la relación entre la ancestralidad amerindia y las bajas concentraciones de cHDL de la población mexicana.

Planteamiento del problema

Pregunta de investigación: ¿Existe asociación entre el origen ancestral e hipoalfalipoproteinemia en una población mexicana determinada con alto mestizaje?

La población contemporánea latinoamericana y mexicana constituyen una mezcla heterogénea de tres poblaciones ancestrales: amerindios, europeos y africanos. Tomando en cuenta la complejidad de esta mezcla ancestral, las poblaciones mexicanas representan una gran oportunidad para esclarecer los efectos genéticos, sociales y ambientales en los eventos de la salud de las diferentes poblaciones.

La población mestiza mexicana se ha caracterizado por presentar bajas concentraciones de cHDL relacionados con el síndrome metabólico. Esto predispone a la población vulnerable a sufrir cardiopatía isquémica y por lo tanto aumentar el índice de mortalidad cardiovascular, la cual es la primera causa de muerte en nuestro país.

Diversos estudios científicos han establecido que los genes cumplen un papel importante en la tendencia de ganar peso excesivamente, y esto depende de las variaciones étnicas con riesgo a la enfermedad, basándose en estudiar poblaciones descendientes.^{14,22}

Descifrar el mapa genético de las poblaciones altamente mestizas, podría llevarnos a comprender la importante prevalencia de estas bajas concentraciones de cHDL en la población y así lograr una prevención efectiva, mediante una detección oportuna de las poblaciones más vulnerables. Las poblaciones altamente mestizas, como la mexicana, representan una oportunidad de estudio para evaluar el grado de ancestralidad correlacionada con diversas enfermedades, como lo es la alta prevalencia de hipoalfalipoproteinemia en nuestra población.

Justificación

Aunque no se ha logrado encontrar una causa específica sobre las bajas concentraciones de HDL en la población mexicana (que determina una asociación con cardiopatía isquémica y síndrome metabólico), con este estudio se darán mayores elementos para encontrar el componente genético relacionado con la ancestralidad amerindia en la población.

De esta manera se podría lograr una detección oportuna de los pacientes con riesgo a desarrollar hipoalfalipoproteinemia. Con ello sería posible asignar un cambio de estilo de vida y aplicar medidas higiénico dietéticas o, de ser necesario, comenzar un tratamiento médico precoz y así evitar la aparición de enfermedades crónico degenerativas. Prevenir oportunamente el síndrome metabólico, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus y las dislipidemias constituiría un importante ahorro para el sistema de salud mexicano. En términos reales, el gobierno federal de México gasta aproximadamente 42 millones de pesos anuales para el tratamiento de pacientes con enfermedades crónicas en nuestro país.²³

Objetivos

a) Objetivo General

- 🚩 Evaluar la asociación entre la proporción de cada una de las poblaciones ancestrales (amerindia, europea y africana) con la variabilidad en las concentraciones de HDL en una submuestra representativa de la población mexicana.

b) Objetivos Específicos

- 🚩 Identificar el grado de mezcla genética en una submuestra representativa de la población mexicana.
- 🚩 Identificar la distribución de las concentraciones de HDL en esta población.
- 🚩 Estimar la prevalencia de hipoalfalipoproteinemia en la población.

- ✚ Estimar la existencia de un componente genético para una prevalencia de bajas concentraciones de HDL en la población.
- ✚ Estimar la asociación de bajas concentraciones de HDL con la proporción de ancestralidad europea.
- ✚ Estimar la asociación de bajas concentraciones de HDL con la proporción de ancestralidad amerindia.
- ✚ Estimar la asociación de bajas concentraciones de HDL con la proporción de ancestralidad africana.
- ✚ Evaluar si la asociación entre ancestralidad y HDL se explica por variables asociadas al síndrome metabólico, otras enfermedades metabólicas o crónico degenerativas.

Marco Teórico

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son un tipo de lipoproteínas que pueden retirar el colesterol de las arterias y transportarlo desde los tejidos del cuerpo al hígado, para excreción y reciclaje. Elevadas concentraciones de HDL (mayor a 60 mg/dL) tienen un carácter protector contra las enfermedades cardiovasculares. Bajas concentraciones de HDL (menor a 40mg/dL) suponen un aumento del riesgo de estas enfermedades.^{3,4}

La hipoalfalipoproteinemia corresponde a concentraciones plasmáticas de colesterol HDL por debajo del décimo percentil ajustado para la edad y el sexo del sujeto.²⁴ En términos prácticos, un HDL bajo (menor a 40 mg/dL) es considerado como hipoalfalipoproteinemia.⁵

En cuanto a ancestralidad se refiere, un ancestro es un progenitor, es decir un antepasado directo (padre o madre); o recursivamente, un progenitor de un ancestro (p.e., un abuelo, bisabuelo, y así sucesivamente). El término igualmente suele ser usado para referirse a un grupo de antepasados relacionados a un antepasado directo (familia, pueblo, etnia, etc), del cual un individuo o grupo de individuos descienden.²⁵ En biología, dos individuos tienen una relación genética si uno es el ancestro del otro o si comparten un ancestro común; en evolución biológica, especies que comparten un ancestro evolutivo se dice que son de descendencia común.²³

Los *AIMs* (Ancestry Informative Markers) son marcadores genéticos que proveen información de ancestralidad. Esto se debe a que estiman el valor cuantitativo representando el grado de historial de ancestralidad en individuos con ancestralidad genéticamente mestiza y se realizan mediante la identificación de los alelos distintivos en individuos mestizos, los cuales son una herramienta de mapeo muy importante para identificar a los genes que predisponen a diversas enfermedades en la poblaciones mestizas.^{7,9}

Para estimar el porcentaje de mestizaje en una población se utiliza el programa STRUCTURE, el cual se basa en métodos estadísticos Bayesianos. Estos métodos utilizan la información genotípica de todos los individuos en una muestra que es utilizada simultáneamente para estimar el porcentaje de mestizaje individual. De esta manera, se puede determinar el porcentaje de cada una de las tres poblaciones ancestrales: amerindia, europea y africana en cada una de las muestras de ADN correspondientes a cada sujeto.⁸

Para estudiar a las poblaciones mestizas y su asociación con diferentes patologías presentes en ellas, se puede recurrir al método de *admixture mapping*¹⁰, el cual es el primer método experimental que se acerca a describir el genoma humano. Éste se refiere al uso de poblaciones con variedad en su ancestralidad y su correlación con la variación fenotípica (características físicas) para conocer el grado de mezcla genética. Para analizar lo anterior, se ha utilizado el método de *Genome Wide Association*^{11,26}, el cual es otro método experimental en donde se corren las muestras de ADN y se observa la sección de genes específicos para cierta patología en la población, en nuestro estudio, concentraciones bajas de HDL. Ya que la población estudiada difiere en sus rasgos genéticos, el apareamiento intergrupar puede llevar a una mayor probabilidad de heterocigocidad en el producto para determinar los factores genéticos determinantes. Esto se mide con marcadores anónimos o SNPs (single-nucleotide polymorphism) y puede proporcionar una estimación más exacta de la ancestralidad.²⁷

Un SNP es una secuencia de variación del ADN (Ácido Desoxirribonucleico) que ocurre cuando un sólo nucleótido en el genoma difiere entre dos o más miembros de una misma especie. Las variaciones en las secuencias del ADN o en sus nucleótidos, pueden afectar el desarrollo de diversas enfermedades, así como la respuesta a estas mismas. El estudio de los SNPs y el *admixture mapping* es importante, ya que al comparar regiones del genoma humano se puede descifrar la causa de distintas enfermedades o la respuesta de las poblaciones a ellas.²⁸

Las siguientes figuras ilustran la asociación que se espera encontrar en el presente estudio.

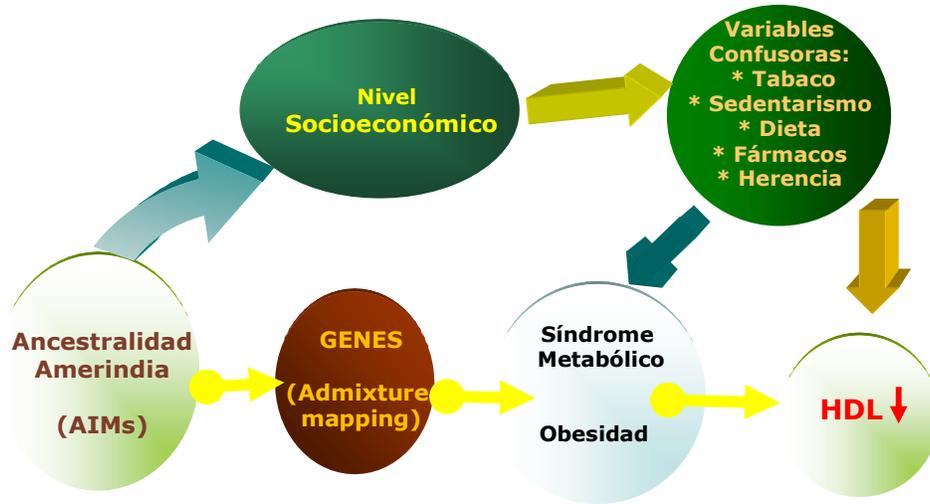


Figura 1. La ancestralidad (amerindia), definida mediante *AIMs*, supone genes implicados en la aparición de síndrome metabólico y obesidad debido a los bajas concentraciones de HDL encontrados en la población mexicana. Esta relación se puede estudiar mediante el *admixture mapping*. Además, el nivel socioeconómico se puede encontrar como una variable interviniente, ya que diversos estudios han mostrado que la ancestralidad amerindia muestra desventajas económicas lo que implica un probablemente deteriorado estilo de vida.^{25,29}

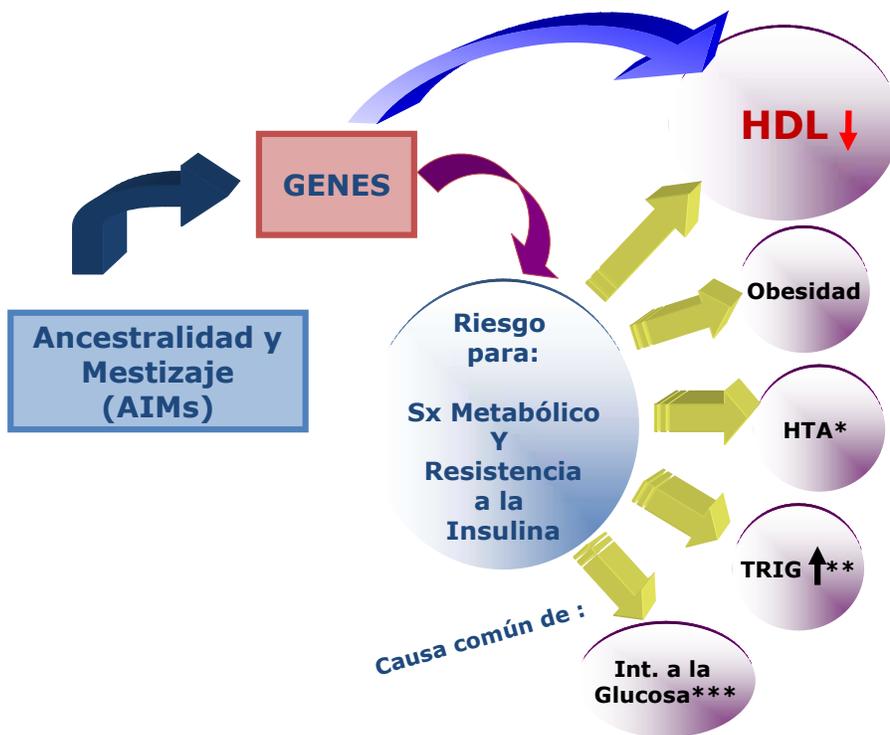


Figura 2. Con el presente estudio se pretende demostrar que la ancestralidad, derivada de un importante mestizaje predominantemente amerindio, conlleva genes que determinan riesgos importantes para alteraciones metabólicas y que desencadenan una alta prevalencia de bajas concentraciones de HDL en la población, entre otras enfermedades crónicas degenerativas.

* Hipertensión Arterial ** Triglicéridos *** Intolerancia a la glucosa

Hipótesis

La proporción de ancestralidad amerindia se *asocia* a concentraciones de colesterol de alta densidad. En otras palabras, el promedio del porcentaje de ancestralidad de sangre amerindia en el grupo que tiene HDL bajo, es *diferente* al promedio del porcentaje de ancestralidad de sangre amerindia en el grupo que presenta HDL normal.

Metodología

Se realizará un estudio observacional transversal y analítico basado en datos de la Encuesta Nacional de Salud 2000 (ENSA 2000)³⁰, la cual es la última encuesta nacional de salud realizada en México y cuenta con la información requerida para este estudio. A partir de estos datos se realizará un análisis secundario de una submuestra compuesta por 2,172 sujetos, de quienes se obtuvo información sobre diferentes variables de interés a partir de los datos recolectados dentro de los cuestionarios. Así mismo se obtuvieron muestras biológicas para determinar concentraciones de HDL, entre otras.

I. Antecedentes del diseño de la muestra

La ENSA 2000 ³⁰ retoma los temas relevantes de las encuestas nacionales realizadas hasta 1998. El diseño muestral fue probabilístico, polietápico, estratificado y por conglomerados. Los pasos del proceso de selección fueron los siguientes:

- ❖ Asignación proporcional del número de viviendas en muestra, por estrato urbano rural.
- ❖ Selección de 14 municipios por estado, con reemplazo y con probabilidad proporcional de número de viviendas en el mismo.
- ❖ Selección de cinco áreas geoestadísticas básicas (AGEB's) por municipio, con probabilidad proporcional al tamaño.
- ❖ Selección de tres manzanas por AGEB, con igual probabilidad.
- ❖ Selección de siete viviendas por manzana, con igual probabilidad.
- ❖ Selección de un individuo en el grupo de edad de interés, con igual probabilidad.

Para cada uno de estos grupos se realizaron además, por primera vez en nuestro país, mediciones biológicas específicas, con las cuales es posible estudiar las características genéticas de la población mexicana.³⁰ Para obtener la información requerida de los sujetos encuestados se realizaron las siguientes estrategias:

1. El periodo de levantamiento se definió en 6 meses y medio, abarcando de septiembre de 1999 a marzo de 2000.
2. Se captó la información aplicando encuesta directa al informante adecuado, y se tomaron análisis clínicos y medidas de parámetros biológicos.
3. Se llevó a cabo un periodo de capacitación, en dos fases, con una duración total de cuatro semanas para realizar una estrategia operativa especial para el cuidado, manejo, conservación, traslado y concentración de las muestras de orina y de sangre en el laboratorio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP).
4. Sistema inteligente de captura, desarrollo de rutinas y validación de los archivos, y creación de un banco de datos, conformado por seis bases de datos relacionadas e integradas.
5. La mayor parte de la información que contiene la ENSA 2000 fue obtenida mediante la aplicación de cinco cuestionarios diferentes: a) hogar, b) miembros de familia con uso de servicios de salud, c) cuestionarios individuales para niños (0-9 años), adolescentes (10-19 años) y adultos (20 años o más). Para la submuestra de este estudio, únicamente se tomaron las variables requeridas de los cuestionarios de hogar y adultos.
6. Además de la aplicación de estos cuestionarios se utilizaron otros procedimientos para recolectar información como fueron la somatometría de los miembros de la familia seleccionados y la toma de muestras biológicas corporales para la determinación de concentraciones de colesterol, cHDL y glucosa en ayunas entre otras.

Para la presente investigación, en cuanto a las consideraciones éticas, consentimiento informado de la recolección de datos de la encuesta y toma de muestras, así como las consideraciones de bioseguridad, se señalan en las cartas que se adjuntan a este protocolo copias de las cartas correspondientes aprobadas por cada comisión dentro del INSP, incluyendo la aprobación definitiva de la Comisión de Investigación dentro del INSP.

II. Población de estudio

Dentro de esta investigación, se define a la población blanco como las distintas poblaciones mestizas del mundo; la población origen se refiere a poblaciones mestizas mexicanas y la población en estudio se obtiene de una submuestra nacional representativa de la población mexicana en ayuno.

Durante la realización de la ENSA 2000 se encuestaron a 45,726 viviendas en total, con un promedio de 1,429 por entidad federativa. La población encuestada fue de 190,214 personas, con un promedio de 5,944 por entidad federativa. Se recolectaron 82,152 muestras de suero de sujetos mayores

de un año de edad y 43,085 muestras para identificación de DNA de sujetos de 20 años de edad o más. De éstas, se tomó una submuestra de 2,478 únicamente de los pacientes que contaban con ayuno al momento de la toma de muestra serológica. Se consideró como criterio primordial el ayuno debido a las normas sobre la colección de muestras serológicas para análisis de laboratorio clínico.³¹

Para la recolección de las muestras serológicas, durante la realización de la ENSA 2000, personal entrenado obtuvo muestras de sangre venosa y los sueros se almacenaron en ultracongeladores con nitrógeno líquido a -150° C hasta su análisis. La toma se colectó con 19 mL de sangre en tubos al vacío con EDTA que se identificaron mediante códigos de barras. Estas condiciones se consideran adecuadas para la posterior determinación de colesterol, cHDL y glucemia entre otras. Se observaron los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte y disposición final del residuo peligroso biológico infeccioso (RPBI) comprendido en la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-1995.

Las muestras se enviaron al banco de ADN del INSP y las que fueron suficientes y adecuadas para la medición de ancestralidad mediante *AIMs* y tuvieron también una adecuada medición de HDL, resultaron como la submuestra final para esta investigación (2,172 sujetos).

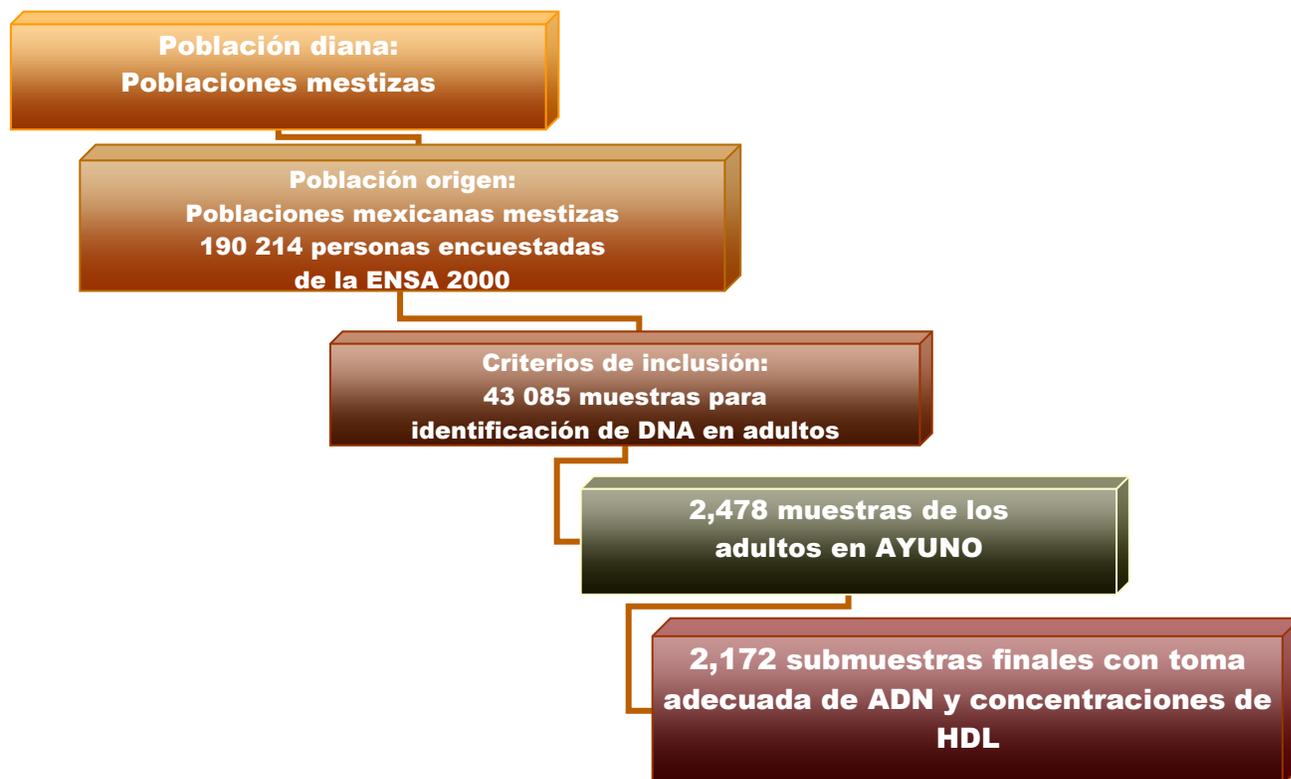
Para llevar a cabo la medición de ancestralidad se enviarán las muestras del banco de ADN de los 2,172 sujetos, a la Universidad de San Francisco en donde se determinará mediante *AIMs* (Ancestry Informative Markers)^{7,8,9} el porcentaje de ancestralidad para cada sujeto. El marcaje se realiza mediante la identificación de los alelos distintivos en individuos mestizos. Posteriormente, para estimar el porcentaje de mestizaje amerindio, europeo y africano en la población, se evaluarán los resultados de los *AIMs* por medio de estadísticas Bayesianas, utilizando el paquete estadístico STRUCTURE⁸.

Con la obtención de esta información, se podría realizar en un estudio subsecuente a éste, una búsqueda más específica para estimar asociaciones de diversos genes con la presencia de concentraciones bajas de HDL por medio del método de *admixture mapping*.⁹

Criterios de inclusión*

- a) Participantes de la Encuesta Nacional de Salud 2000, encuesta para adultos.
- b) Participantes que reportaron ayuno dentro de esta encuesta.
- c) De los sujetos con ayuno, participantes a los que se les tomó muestra de sangre venosa.
- d) De los sujetos que se les tomó muestra de sangre venosa, se seleccionaron las muestras que cuentan con resultados de laboratorio y muestra de HDL.
- e) De las muestras de ADN que se enviaron al banco de sangre del INSP, muestras que son suficientes y adecuadas para el estudio de ancestralidad.

* El siguiente diagrama ilustra los criterios de inclusión:



III. Medición de las variables de interés en el estudio

Tabla 3.

| Variable | Escala | Clasificación | Operacionalización | Medición |
|------------------------|-----------------------|---------------------------|---|---|
| Concentraciones de HDL | Categórica Dicotómica | Dependiente | < 40 mg/dL : HDL bajo Hipoalfalipoproteinemia > 41 mg/dL : HDL normal | Muestras serológicas Cuestionario ENSA 2000 Adulto |
| % de ancestralidad | Continua | Independiente | 0-100% para cada una de las poblaciones ancestrales. | Muestras serológicas AIMs en ADN |
| Nivel Socioeconómico | Categórica Politómica | Interviniente y Confusora | Muy Bajo: 0 a 1,100 pesos mensuales. Bajo: 1,101 y 2,383 pesos mensuales. Medio: 2,384 a 4,549 pesos mensuales. Medio Alto: 4,550 pesos y más. | Cuestionario ENSA 2000 Hogar |
| Edad | Categórica | Covariable | 20-39 | Cuestionario |

| | | | | |
|----------------------------------|--------------------------|------------|--|---|
| | Politómica | | 40-59 60-79 | ENSA 2000 Hogar |
| Sexo | Categórica Dicotómica | Covariable | Hombre Mujer | Cuestionario ENSA 2000 Hogar |
| IMC | Categórica Politómica | Covariable | 18.5-24.9 : Normal 25.0-29.9 : Sobrepeso 30 ó > : Obesidad | Somatometría Cuestionario ENSA 2000 Adulto |
| Tabaquismo | Categórica Dicotómica | Covariable | Si No | Cuestionario ENSA 2000 Adulto |
| Antecedentes Heredofamiliares | Categórica Politómica | Covariable | Sx Metabólico DM2 HTA Otra | Cuestionario ENSA 2000 Adulto |

IV. Poder Estadístico

De la población seleccionada, se realizó un análisis de poder estadístico para detectar diferencias entre la proporción de ancestralidad en los sujetos con HDL alto o bajo según la categoría de exposición tomando como variable dependiente ancestralidad y como independiente concentraciones HDL, con estimaciones de hipoalfalipoproteinemia del 63% tomados de los análisis realizados en la ENSA 2000.³⁰

Para aplicar el análisis de poder estadístico, se espera encontrar un 37% de sujetos con concentraciones de HDL bajas y un 63% de sujetos con concentraciones de HDL normal, de la submuestra de 2,172 sujetos. En un estudio anterior¹⁷ el porcentaje de ancestralidad amerindia tuvo una distribución aproximadamente normal con una desviación estándar de 22.13. Si la diferencia verdadera en las medias de los grupos con HDL alto y bajo es 2.77 puntos porcentuales de ancestralidad amerindia (diferencia mínima detectable), podremos rechazar la hipótesis nula de que las medias de la población de los grupos con HDL alto y bajo son iguales con un poder del 80%. Dado que la diferencia a estimar es incierta, se hizo un cálculo del poder en función de la diferencia a detectar, la cual se observa en la siguiente figura. La probabilidad de el error tipo I asociada a esta prueba es 0.05.

GRÁFICA DE PODER ESTADÍSTICO: ASOCIACIÓN ENTRE ANCESTRALIDAD Y CONCENTRACIONES DE HDL

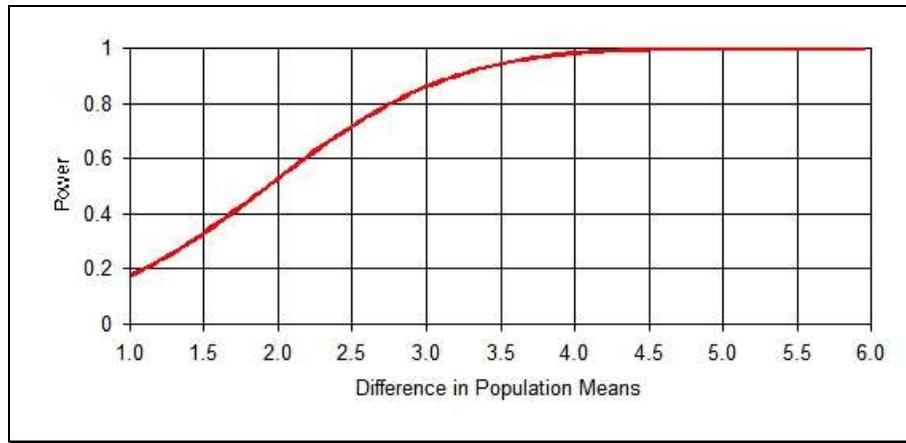


Figura 3. Se puede observar un poder del 80% si la diferencia en las medias de los grupos con HDL alto y bajo es 2.77 puntos porcentuales de ancestralidad amerindia, con una submuestra de 2, 172 sujetos: 63% con HDL normal y 37% con HDL bajo.

V. Análisis Estadístico

Los análisis estadísticos considerarán el diseño complejo de la encuesta y el muestreo polietápico, estratificado y por conglomerados, además de los factores de expansión para considerar la probabilidad de selección en la muestra.

Se contará con una muestra de 2,172 sujetos tomados de la ENSA 2000 y se realizará el análisis exploratorio de los datos en donde se obtendrán medidas de tendencia central y de dispersión para las variables numéricas y proporciones para variables categóricas. Para comparaciones bivariadas de la variable de interés con las variables explicativas numéricas, entre ellas ancestralidad, se realizarán pruebas de t de Student o de Mann-Whitney, de acuerdo a la distribución de las variables. En el caso de las variables explicativas categóricas se realizarán pruebas de χ^2 .

La estimación del porcentaje de mestizaje en la ancestralidad de la población, se realizará por medio de estadísticas Bayesianas con el programa STRUCTURE.

Para evaluar la asociación entre ancestralidad y los momios de contar con HDL baja, se ajustarán modelos de regresión logística con el porcentaje de ancestralidad amerindia como variable explicativa. Estos mismos modelos se ajustarán considerando variables potencialmente confusoras o modificadoras de efecto.

El modelo empírico del estudio será de la forma:

$$\ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 AI_i + \mathbf{XB} + \mathbf{XAI}\Delta$$

Donde:

p_i = representa la probabilidad de tener HDL por debajo de 40 mg/dl.

AI_i = Porcentaje de ancestralidad amerindia.

\mathbf{XB} = vector de covariables; ver tabla 3.

\mathbf{XAI} = Vector de términos de interacción entre el porcentaje de ancestralidad amerindia y las covariables del estudio. Aquellos términos de interacción que no sean plausibles o estadísticamente significativos no serán incluidos en el modelo ajustado final.

Como un análisis secundario, se ajustarán modelos de regresión lineal (o algún otro modelo lineal generalizado adecuado) con la variable HDL como variable de respuesta, utilizando las mismas covariables incluidas en los modelos de regresión logística, con el objetivo de estimar el carácter funcional de la asociación entre ancestralidad y HDL. Los análisis de este estudio se realizarán por medio del paquete estadístico STATA 10.0.

Limitaciones y sesgos

En esta investigación se pueden identificar como posibles errores aleatorios las variaciones biológicas como son la toma de somatometría y de muestras serológicas. Aunque es factible que éstos sean mínimos, dado la capacitación estandarizada del personal dentro de la realización de la ENSA 2000.

Así mismo, se esperan mínimos errores de información recolectada en campo, ya que al igual que en el caso anterior, la misma capacitación estandarizada del personal ofrece seguridad en esta información recolectada. Por otra parte, dentro de la ENSA 2000 no se midieron las variables de dieta y ejercicio, por lo tanto no se cuenta con dicha información para conocer la relación con la variación de HDL, lo cual podría constituir una posible confusión en este nivel de análisis.

Conjuntamente, los modelos estadísticos toman en cuenta cierto grado de errores aleatorios. Si el error aleatorio ocurre en la variable de respuesta, las estimaciones pueden no estar sesgadas. Mientras que, si ese error aleatorio ocurre en las variables explicativas, su efecto sobre la variable de respuesta se subestima.³²

Acerca de los posibles sesgos de selección de este estudio, se tomó en cuenta la representatividad a nivel nacional de la submuestra de la ENSA 2000, compuesta por 2,172 individuos en ayuno (validez externa). Para evitar este sesgo se comparó mediante análisis estadísticos, con los individuos que no contaban con ayuno para verificar las diferencias en todas las variables comparables, corroborando lo esperado en estudios previos.^{12,13,15}

De esta manera, se tiene la confianza de que los posibles sesgos introducidos no asuman una magnitud relevante para invalidar el presente estudio.

Resultados esperados e impacto

Dentro de los resultados obtenidos del análisis, se espera encontrar que la proporción de ancestralidad amerindia tiene una asociación positiva con las concentraciones de colesterol de alta densidad. Es decir, que el promedio del porcentaje de ancestralidad de sangre amerindia en el grupo que tiene HDL bajo, es diferente al promedio del porcentaje de ancestralidad de sangre amerindia en el grupo que tiene HDL normal. De tal manera que si se cuenta con ancestralidad amerindia se definen los genes que provocan las concentraciones de HDL bajas en el organismo.

Esto sería razón suficiente para prevenir eficazmente enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico u otras enfermedades crónico degenerativas implicadas en personas que presentaran ancestralidad amerindia y genes para desarrollar un HDL bajo en el organismo. Ya que no se cuenta con una causa específica sobre la elevada prevalencia de bajas concentraciones de HDL en la población mexicana, encontrar una asociación positiva sobre los bajos concentraciones de HDL y ancestralidad amerindia en este estudio, proporcionaría una importante pauta para comenzar la búsqueda específica del gen o genes implicados en esta patología.

Lograr esto, constituiría un importante ahorro para el sistema de salud mexicano, ya que se podrían prevenir algunas de las enfermedades crónico degenerativas que más afectan al país.

Además, se espera contar con al menos un artículo científico obtenido de esta tesis para conformar la titulación de una alumna de maestría, presentación en congresos y sentar antecedentes de investigación en epidemiología genética para lograr una mayor consistencia sobre la literatura estudiada y publicada.

Referencias Bibliográficas

- ¹ Organización Mundial de la Salud, WHO 2009. Publicado en línea en: www.who.int
- ² Lakka H., Laaksonen D., Lakka T. et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709-2716.
- ³ Harrison T. R (2001). Principios de Medicina Interna. (14a edición) (Vol II, pp 1539) México: Ed. Mc Graw Hill Interamericana.
- ⁴ National Institutes of Health. Third Report of the National Cholesterol Education Program. Final report. (NCEP) 2002. Publicado en línea en: www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/atp3full.pdf
- ⁵ National Cholesterol Education Program: Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486- 2497.
- ⁶ Basilio Moreno E. (1997). Diagnóstico y tratamiento en enfermedades metabólicas. (1ª Edición) (pp 327-328) España: Ed. Madrid Díaz de Santos.
- ⁷ González Burchard E, Borrell L, Choudhry S, et al. Latino populations: a unique opportunity for the study of race, genetics, and social environment in epidemiological research. *Am J Public Health* 2005; 95: 2161-2168.
- ⁸ Fernández J, Shiver M. Using genetic admixture to study the biology of obesity traits and to map genes in admixed populations. *Nutrition Reviews, International Life Science Institute* 2004; 62: S69-S74.
- ⁹ Pritchard J, et al. Association mapping in structured populations. *Am J Human Genetics* 2000; 67: 170-181.
- ¹⁰ McKeigue P. Prospects for Admixture Mapping of Complex Traits. *Am J Human Genetics* 2000; 76: 1–7.
- ¹¹ Tian C, Hinds D, Shigeta R. A Genomewide Single-Nucleotide–Polymorphism Panel for Mexican American Admixture Mapping. *Am J Human Genetics* 2007; 80: 1012-1023.
- ¹² Barquera S. Dyslipidemias and obesity in Mexico. *Salud Pública México* 2007; 49: 338-347.
- ¹³ Aguilar-Salinas C, Rojas R, Gómez-Pérez F, Valles V, et al. Características de los casos con dislipidemias mixtas en un estudio de población: resultados de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. *Salud Pública México* 2002; 44: 546-553.
- ¹⁴ Budoff M, Nasir K, Mao S, Tseng P, et al. Ethnic differences of the presence and severity of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006; 187: 343-50.
- ¹⁵ Villalpando S. Asociación entre índice de masa corporal, hiperglicemia y alteraciones de los componentes del síndrome metabólico en adolescentes mexicanos. *Salud Pública de México* 2007; 49: 324-330.
- ¹⁶ Bonilla C, Gutiérrez G, Parra E, Shriver M. Admixture Analysis of a Rural Population of the State of Guerrero, Mexico. *Am J Physical Anthropology* 2005; 128: 861–869.
- ¹⁷ Martínez-Marignac V, Valladares A, Cameron E, Chan A, et al. Admixture in Mexico City: implications for admixture mapping of Type 2 diabetes genetic risk factors. *Am J Human Genetics* 2007; 120: 807–819
- ¹⁸ Salari K, Choudhry S, et al. Genetic admixture and asthma-related phenotypes in Mexican American and Puerto Rican asthmatics. *Genetic Epidemiology* 2005; 29: 76-86
- ¹⁹ Choudhry S. Population stratification confounds genetic association studies among Latinos. *Am J Human Genetics* 2006; 118: 652–664.

-
- ²⁰ Rodríguez C, Méndez P. Comparison of Modifiable Determinants of Lipids and Lipoprotein Levels Among African-Americans, Hispanics, and Non-Hispanic Caucasians >65 Years of Age Living in New York City. *Am J Cardiology* 2002; 89: 178-183.
- ²¹ Tull E, Thurland A. Dyslipidemia and insulin resistance in relation to genetic admixture among hispanics and non-hispanic blacks of Caribbean origin. *Journal of the National Medical Association* 2004; 96: 332-340.
- ²² Zimmet P. Type II (non insulin-dependent) diabetes, an epidemiological overview. *Diabetologia* 1982; 22: 399-411.
- ²³ Secretaría de Salud, Subdirección de Costos 2009. Publicado en línea en: www.economia.gob.mx/pics/p/p9000/260110-1.pdf
- ²⁴ Pérez-Méndez O, Luc G, Posadas-Romero C. Concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. *Arch Inst Cardiol Méx* 2000; 70: 312-321.
- ²⁵ Ancestro. *La enciclopedia libre*, 2010. Publicado en línea en: <http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Ancestro&oldid=33225349>.
- ²⁶ Kathiresan S, Manning A, Demissie S, D'Agostino R, Surti A, et al. A genome-wide association study for blood lipid phenotypes in the Framingham Heart Study. *BMC Med Genet* 2007; 8: 17.
- ²⁷ Shriver M. Skin Pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Am J Human Genetics* 2003; 112: 387-399.
- ²⁸ Price A, Patterson N, Yu F. A Genomewide Admixture Map for Latino Populations. *Am J Human Genetics* 2007; 80: 1024-1036.
- ²⁹ Bastos J, Peres M, Glazer-Peres K, et al. Socioeconomic differences between self- and interviewerclassification of color/race. *Rev Saúde Pública Brazil* 2008; 42: 1-8.
- ³⁰ Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud 2000. Primera edición, México 2003. Publicado en línea en: www.insp.mx/ensa2000
- ³¹ Céspedes-Quevedo M, Edward-Seringe S. Preparación del paciente y colección de muestras para análisis de Laboratorio Clínico. *MEDISAN* 1999; 3: 31-35
- ³² Armstrong BG. Effect of measurement error on epidemiological studies of environmental and occupational exposures. *Occup Environ Med* 1998; 55: 651-656.