

La delección de nueve pares de bases en la región V del ADN mitocondrial, en Maracaibo – Venezuela

María G. Portillo¹, Lisbeth Borjas¹, María A. Sánchez¹, William Zabala¹, Erika Fernández², Patricia Villamediana³ y Lennie Pineda-Bernal^{1*}

¹Laboratorio de Genética Molecular. Unidad de Genética Médica. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo – Venezuela. ²Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo - Venezuela. ³Departamento de Biología. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo – Venezuela.

Recibido: 14-04-05 Aceptado: 27-04-06

Resumen

Maracaibo, capital del Estado Zulia, situada al noroeste de Venezuela, es considerada una población de origen triétnico, producto de la mezcla entre europeos y africanos con amerindios locales; sin embargo, la magnitud de la contribución de estos últimos no es clara. El haplogrupo B, definido por la delección de 9 pares de bases (pb), en la región V del ADN mitocondrial humano, se ha catalogado como marcador amerindio, reportándose recientemente altas frecuencias en poblaciones autóctonas zulianas (*Wayúu*, *Barí* y *Yukpa*). Por esta razón, y por su amplio uso en estudios poblacionales y evolutivos, se analizó mediante la técnica de PCR dicho polimorfismo en la capital zuliana como abordaje preliminar para estimar la contribución amerindia en la población contemporánea de Maracaibo. El 15 % de la muestra mostró la delección de 9-pb, y refleja la contribución mínima matrilineal amerindia en esta ciudad. Asimismo, la ausencia de la delección en el 85 % restante podría ser reflejo de la presencia de otros haplogrupos amerindios, de haplogrupos europeos y en menor grado, de africanos. Estas hipótesis están basadas en documentos sobre la historia del poblamiento de la zona y otros estudios genéticos realizados en la entidad marabina.

Palabras clave: ADNmt; haplogrupo B; la delección de 9-pb; Maracaibo; región V.

The deletion of nine base pairs in the region V of mitochondrial ADN in Maracaibo, Venezuela

Abstract

Maracaibo, Zulia state's capital, at the northwest of Venezuela, is considered a population of triethnic origin, product of the admixture between europeans and africans people with local amerindians; however, the magnitude of the contribution of these last ones is not clear. Haplogroup B, defined by the deletion of 9 bases pairs (bp), in the region V of human mitochondrial DNA, has been referred as an amerindian marker and its high frequencies have been reported recently in zulian native populations (*Wayúu*, *Barí* and *Yukpa*). Therefore, and by its extensive use in population and evolutionary studies, this polymorphism was analyzed by means of the PCR technique to consider the amerindian contribution in the contemporary population of Ma-

* Autor para la correspondencia. E-mail:lenniepineda@cantv.net

racaibo. Fifteen percent of the sample showed the deletion of 9-bp, and reflect the minimum matrilineal amerindian contribution in this city. Also, the absence of the deletion in the rest of the sample could be reflected through the presence of other amerindian haplogroups, European haplogroups and a minor African contribution. These hypotheses are supported with data on the history of the Zulia's settlement and other genetic studies.

Key words: 9-pb deletion; haplogroup B; Maracaibo; mtDNA; Region V.

Introducción

La región entre los genes de la Citocromo Oxidasa II y el tARN de lisina COII/tARN(lys), porta un segmento no-codificante que contiene 2 copias de nueve pares de bases (CCCCCTCTA) repetidas en tandem, una al lado de la otra, descrita por Anderson (1). La pérdida de una de las dos repeticiones de 9-pb, define el haplogrupo B amerindio y es uno de los marcadores antropológicos mitocondriales más usado para el estudio de los grandes grupos étnicos (2).

Se encuentra tanto en poblaciones asiáticas modernas como ancestrales (3), así como también en poblaciones de origen asiático incluyendo las Islas del Pacífico (4-6) y tribus de Nativos Americanos (7-15), lo que ha permitido que sea considerado un marcador específico de individuos de origen asiático-amerindio (6).

En estudios más recientes se ha observado la presencia de este polimorfismo en poblaciones africanas (16-18) y relacionado específicamente con el subhaplogrupo L1 africano (19). Sin embargo, se ha demostrado que la aparición de esta mutación se debe a un evento mutacional diferente al ocurrido en Asia y consecuentemente tiene un origen independiente (17).

En el caso de Europa, la presencia de este marcador es sumamente rara (20) y se ha postulado que los tres casos aislados reportados en la literatura tienen un origen más reciente e independiente de Asia y África. (21).

Con respecto a poblaciones que han sufrido procesos de mestizaje muy marcados, el haplogrupo B, ha sido reportado para México, Puerto Rico, Aruba, Brasil, Chile, Uruguay y Argentina (2-28). En el caso de Brasil, Belice y Uruguay no solo estuvo presente el haplogrupo B,

sino también la deleción relacionada con ancestros africanos (22, 29, 30).

Maracaibo, capital del estado Zulia, situada al noroeste de Venezuela, ha sido considerada una población de origen triétnico, producto de la mezcla entre europeos y africanos con los amerindios o indígenas locales (31, 32); sin embargo, la magnitud de la contribución de estos últimos no es clara.

En este trabajo, que forma parte del programa sobre diversidad genética de poblaciones del Estado Zulia, se presentan los primeros resultados sobre la contribución mitocondrial amerindia, en particular, del haplogrupo B, a la población contemporánea de Maracaibo.

Materiales y Métodos

Población y Muestras. Se estudiaron 133 muestras de ADN tomadas del Banco de ADN del Laboratorio de Genética Molecular de la Unidad de Genética Médica de la Universidad del Zulia (LGM-UGM-LUZ), derivadas de individuos que solicitaron la prueba de paternidad biológica y de donantes de sangre que acudieron al Centro Hematológico de Occidente en Maracaibo, nacidos en la ciudad de Maracaibo Sub-Región Capital del Estado Zulia, localizado en la zona noroeste de la República Bolivariana de Venezuela.

Extracción de ADN y amplificación del polimorfismo de la deleción de 9-pb. Las muestras de ADN fueron extraídas mediante el método combinado Fenol - Sevag - Extracción Inorgánica y el método FTA para manchas en papel (GIBCO). Para la determinación de la deleción de 9-pb, se amplificó la región intergénica COII/tRNA (lys) mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), siguiendo el protocolo descrito por Alves-Silva *et al*,

1999. La PCR fue visualizada a través de electroforesis de poliacrilamida no desnaturalizada al 10%, con posterior tinción argéntica.

Resultados y Discusión

De los 133 individuos, el 15,03% resultó positivo para la delección, mientras que el 84,97% restante resultó negativo. Cuatro de las muestras que presentaron la delección poseían progenitoras nacidas fuera de la ciudad de Maracaibo, incluso del estado Zulia, dos nacidas en Colombia y las dos restantes originarias de nuestro país, de los estados Falcón y Trujillo, respectivamente.

La baja contribución amerindia observada en la población contemporánea de Maracaibo, a través de la determinación de la delección de 9-pb puede obedecer, por un lado, a que el aporte indígena que posee corresponde a otros haplogrupos marcadores de amerindios o que esta población esté constituida mayoritariamente por otros grupos étnicos en donde el haplogrupo B está ausente, como en el caso europeo y africano.

En relación a la primera hipótesis, es importante destacar que la población nativa de la región zuliana, albergó agrupaciones humanas pertenecientes a tres ramas lingüísticas indígenas heterogéneas. De los Arawakos son representantes los *Wayúu* ó Guajiros y los Paraujanos, siendo el primero de ellos uno de los grupos indígenas más numerosos del país y que habita fundamentalmente en la región noroccidental del estado Zulia (33). De los Caribes y los Chibchas derivaron los *Yukpa* y los *Barí*, respectivamente (34).

Zambrano en 2003 (35), reportó los haplogrupos mitocondriales amerindios en las poblaciones indígenas zulianas *Barí* y *Yukpa* de la Sierra de Perijá, observando en ambas etnias una frecuencia del haplogrupo B (delección 9-pb) de 90,40% y 51,20%, respectivamente. Para los haplogrupos restantes, A, C y D, las frecuencias estuvieron por debajo del 25,6%. En el caso de los *Wayúu*, de acuerdo a los resultados obtenidos recientemente en el LGM-UGM-LUZ, la frecuencia de la delección de 9-pb fue de 47% (36). Sin embargo, Keyeux *et al*, 2002, reportaron para los *Wayúu* colombianos localizados de la región de la Guaji-

ra, una frecuencia de 15% para el haplogrupo B, precedido por un 60% del haplogrupo C. (37).

Estos datos sugieren que el haplogrupo B debió prevalecer en las comunidades indígenas que formaron parte de la población que dió origen a Maracaibo. Asimismo, a pesar de que la endogamia era un factor social importante en los diversos grupos indígenas (34), durante la colonización, muchos expedicionarios protagonizaron uniones formales con mujeres de estos grupos (38), al igual que uniones de hecho y forzadas. Esta situación, no sólo evidencia el mestizaje que se inició sino también la direccionalidad del mismo, ya que predominó la unión de hombres extranjeros con mujeres indígenas asegurando de esta manera la transmisión de su genoma mitocondrial a las generaciones sucesivas.

Datos históricos señalan que a partir de la fundación de Maracaibo, la cual se intentó en tres oportunidades a partir de 1529, como consecuencia de la resistencia de los nativos, se produjo una dramática reducción del tamaño poblacional (34,39,40) que debió generar un cambio drástico en el acervo genético amerindio.

En el presente estudio, los cuatro individuos que poseían la delección tenían madres nacidas fuera de Maracaibo (Colombia y los estados Falcón y Trujillo de la entidad venezolana). Considerando datos geográficos, estas regiones constituían un único estado durante el siglo XVIII (41). Justamente, los resultados encontrados son un reflejo de que este hecho pudo a su vez, favorecer la presencia de un acervo genético común.

La otra hipótesis para explicar la baja frecuencia de la delección de 9-pb en Maracaibo, sería la presencia de contribución étnica no amerindia. En primer lugar, una contribución femenina más reciente, especialmente europea y por último, un aporte africano con valores por debajo de los dos grupos antes nombrados.

Durante los siglos XVII y XIX, Maracaibo recibió fuertes oleajes migratorios europeos, como consecuencia del establecimiento de políticas de inmigración y la creación de colonias extranjeras en Venezuela. En el siglo XX, específicamente en la década de los cincuenta, el pobla-

miento de la región zuliana, se reactivó principalmente por inmigración de españoles e italianos, de ambos sexos (42), que escapaban del fantasma de la segunda guerra mundial.

Así mismo, Maracaibo recibió un contingente importante de esclavos africanos, entre los años 1.528 y 1.647 (43, 44), sin embargo, de acuerdo a reportes históricos éstos fueron destinados en su mayoría, al sur del estado para la explotación agrícola de la zona, por otro lado, esta agrupación estaba constituida principalmente por hombres (45) por lo que el aporte por parte de las mujeres africanas y por ende de su ADN mitocondrial, no debe ser significativo. Lo que permite presumir que la delección encontrada en este trabajo, podría no tener relación con la observada en poblaciones africanas. Esta aseveración es apoyada por estudios realizados en comunidades negroides latinoamericanas, en las que se ha reportado una contribución mitocondrial amerindia predominante, relacionada con la delección de 9-pb (26, 46).

Todo lo antes expuesto, evidencia concordancia con nuestros resultados y el desarrollo histórico y demográfico en la ciudad de Maracaibo, siendo necesario el uso de marcadores de ADN pertenecientes al genoma mitocondrial y al cromosoma Y para confirmar las hipótesis planteadas, los cuales por su naturaleza no recombinante y su herencia uniparental, constituyen un registro fehaciente de la conexión de una población contemporánea con sus ancestros y los cuales permitirán evaluar tanto la proporción y variación del acervo genético ancestral femenino como el introducido en migraciones más recientes y que moldearon el poblamiento de la ciudad de Maracaibo. Este estudio se encuentra actualmente en proceso.

Agradecimiento

Esta investigación pudo realizarse gracias al financiamiento del FONACIT-Venezuela (G-99000035).

Referencias Bibliográficas

1. ANDERSON A., BANKIER AT., BARREL B.G., DE BRUIJN M, COULSON AR., DROUIN A., EPERON IC., NIERLICH DP., ROE BA., SANGER F., SCHREIER PH., SMITH AJH., STADEN R., YOUNG IG. *Nature* 290: 457-474, 1981.
2. ALVES-SILVA J., SANTOS M.S., PENA SD., PRADO VF. *Hum Biol* 71(2): 245-259, 1999.
3. LORENZ J.G., SMITH DG. *Hum Biol* 66(5): 777-788, 1994.
4. HANDOKO H.Y., LUM J.K., GUSTIANI, RISMALIA., KARTAPRADJA H., SOFRO ASM., MARZUKI S. *Hum Biol* 73(2): 205-223, 2001.
5. LUM J.K., CANN R.L. *Am J Phys Anthropol* 105: 109-119, 1998.
6. YAO Y., WATKINS W., ZHANG P. *Hum Genet* 107: 504-512, 2000.
7. BERT F., CORELLA A., GENÉ M., PEREZ-PEREZ A., TURBÓN D. *Hum Biol* 73(1): 1-16, 2001.
8. DEMARCHI D.A., PANZETTA-DUTARI G.M., COLANTONIO S.E., MARCELLINO A.J. *Hum Biol* 73(4):575-582, 2001a.
9. DEMARCHI D.A., PANZETTA-DUTARI G.M., MOTRAN C.C., LOPEZ DE BASUALDO M.A., MARCELLINO A.J. *Am J Phys Anthropol* 115(3):199-203, 2001b.
10. MALHI R., ESHLEMAN A., GREENBERG J., WEISS D., SCHULTZ SHOOK B., KAESTLE F., LORENZ J., KEMP B., JOHNSON J., SMITH D. *Am J Hum Genet* 70: 905-919, 2002.
11. MALHI R., MORTENSEN H., ESHLEMAN A., KEMP B., LORENZ J., KAESTLE F., JOHNSON J., GORODEZKY C., SMITH D. *Am J Phys Anthropol* 120: 108-124, 2003.
12. RODRÍGUEZ- DELFIN L., RUBIN-DE-CELIS V., ZAGO M. *Hum Hered* 51: 97-106, 2001.

13. TORRONI A., SCHURR TG., CABELL M., BROWN MD., NEEL J., LARSEN MERETHE., SMITH DG., VULLO C., WALLACE D. **Am J Hum Genet.** 53: 563-590, 1993.
14. TORRONI A., SCHURR TG., YANG CH., SZATHAMARY EJE., WILLIAMS RC., SCHANFIELD MS., TROUP GA., KNOWLER WC., LAWRENCE DN., WEISS KM., WALLACE D. **Genetics** 130: 153-162, 1992.
15. VONA G., FALCHI A., MORAL .P, CALO CM., VARESI L. **Am J Phys Anthropol** 127(3): 361-369, 2005.
16. CHEN Y., OLCHKERS A., SCHURR T., KOGELNIK A., HUOPONEN K., WALLACE D. **Am J Hum Genet** 66: 1362-1383, 2000.
17. SOODYLLA H., VIGILANT L., HILL A., STONEKING M., JENKINS T. **Am J Hum Genet.** 58: 595-608, 1996.
18. WATKINS WS., BAMSHAD M., DIXON ME., BHASKARA RAO B., NAIDU JM., REDDY PG., PRASAD BV., DAS PK., REDDY PC., GAI PB., BHANU A., KUSUMA YS., LUM JK., FISCHER P., JORDE LB. **Am J Phys Anthropol** 109(2): 147- 158, 1999.
19. CHEN Y., TORRONI A., EXCOFFIER L., SANTACHIARA-BENERECETTI S., WALLACE D. **Am J Hum Genet** 57: 133-149, 1995.
20. BARRIENTOS A., CASADEMONT J., SOLANS A., MORAL P., CARDELLACH F., URBANO-MARQUEZ A., ESTIVILL X., NUNES V. **Hum Genet** 96(2): 225-228, 1995.
21. THOMAS M.G., COOK C.E., MILLER KW., WARING M.J., HAGELBERG E. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci** 353(1371): 955-965, 1998.
22. BONILLA C.L., BERTONI B.L., GONZALEZ S.L., CARDOSO H.L., BRUM-ZORRILLANAL., SANS M. **Am J Hum Biol** 16: 289-297, 2004.
23. GREEN L.D., DERR J.N., KNIGHT A. **Am J Hum Genet** 66(3): 989-998, 2000.
24. MARTÍNEZ J.C. **KACIKE**: Revista de la historia y antropología de los indígenas del Caribe [Revista electrónica], Edición Especial, Lynne Guitar, redactora. Disponible en: <http://www.kacike.org/MartinezEspañol.pdf>. 2002.
25. MARTINEZ V., BERTONI B., PARRA E., BIANCHI N. **Hum Biol** 76(4): 543-557, 2004.
26. RODAS C., GELVEZ N., KEYEUX G. **Hum Biol** 75(1): 13-30, 2003.
27. ROCCO P., MORALES C., MORAGA M., MIQUEL J., NERVI F., LLOPE E., CARVALLO P., ROTHHAMMER F. **Rev Med Chile** 130(2): 125-131, 2002.
28. TORO-LABRADOR G., OSWALD W., MARTINEZ-CRUZADO J. **Caribb J Science** 39 (1): 11-22, 2003.
29. ALVES-SILVA J., DA SILVA M.S., GUIMARÃES P., FERREIRA A., BANDELT H-J., PENA SD., PRADO VF. **Am J Hum Biol** 67: 444-461, 2000.
30. MONSALVE M.V., HAGELBERG E. **Proc R Soc Lond B** 246: 1217- 1224, 1997.
31. PINEDA-BERNAL L., CASTRO-GUERRA D., VILLASMIL MG., BORJAS-FAJARDO L. **Am J Hum Biol** 12(5): 616-662, 2000.
32. PINEDA-BERNAL L., RODRIGUEZ-LARRALDE A., LAREU M., CARRACEDO A., BORJAS-FAJARDO L. **Am J Hum Biol** 15(1): 68-71, 2003.
33. RIVERO D., VIDAL S., BAZÓ M. **Enfoque de Etnias Indígenas de Venezuela, Hacia un Sistema Integral de Calidad de Vida y Salud**. Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS) y Agencia de Cooperación Alemana (GTZ). Disponible en: <http://www.sisov.mpd.gov.ve/articulos/41/Enfoque%20de%20Etnias%20Indigenas.pdf>. 2003.
34. SENTIÉN P.A. **Realidad indígena venezolana**, 1ra.Edición. Fundación Centro Gumilla, Caracas (Venezuela), pp 95, 1999.
35. ZAMBRANO O. Haplogrupos de herencia matrilineal en indígenas de filiación lingüística Caribe y Chibcha de la región noroccidental de Venezuela (M.Sc. Tesis de Maestría), Instituto Venezolano de Investi-

- gaciones Científicas, Caracas (Venezuela), pp.168, 2003.
36. PINEDA-BERNAL L. Datos no publicados.
 37. KEYEUX G., RODAS C., GELVEZ N., CARTER D. *Hum Biol* 74(2): 211-233, 2002.
 38. HNO. NECTARIO MARIA. **Los orígenes de Maracaibo**, Publicaciones de la junta cultural de la Universidad del Zulia No. 2, Maracaibo (Venezuela), pp. 540, 1959.
 39. GÓMEZ A. **Historia fundamental del Zulia**, Tomo I Génesis Zuliana. Ed. Jean Baisari, Maracaibo (Venezuela), pp. 353, 1984.
 40. ARRIETA O. **Datos para la historia del Zulia (Desde su aborígen hasta la Batalla Naval)**. Edic. de la gobernación del estado Zulia. Secretaria de Educación. Fondo editorial "Dr. Raimundo Anduela Palacio". Colección Decreto 73. Historia y Geografía del Zulia, Maracaibo (Venezuela), pp. 130, 1992.
 41. FUENMAYOR W. **Atlas del Estado Zulia**, Síntesis socio, histórico y cultural. 4ta. Edición. Ed. Plamos, C.A, Maracaibo (Venezuela) pp. 141, 2000.
 42. ÁLVAREZ E. **Geografía de la población de Venezuela**, Colección geografía Venezuela nueva. Ed. Ariel- Seix Barral Venezolana, Caracas (Venezuela), pp. 233. 1985.
 43. MARTÍNEZ J. **Antecedentes y orígenes del chimbangueles**, 2da. Edición. Colección Temas Afrovenezolanos 1, Maracaibo (Venezuela), pp. 94, 1985a.
 44. MARTÍNEZ J. **Presencia Africana en el Sur del lago de Maracaibo (Zulia, Mérida y Trujillo)**, 2da. Edición. Colección Temas Afrovenezolanos 3, Maracaibo (Venezuela), pp. 121, 1985b.
 45. BASTIDES R. **Las Américas Negras**, Alianza Editorial, Madrid (España), pp. 230, 1969.
 46. BRAVI C. M., SANS M., BAILLIET G., MARTINEZ-MARIGNA C., PORTAS M., BARRETO I., BONILLA C., BIANCHI N.O. *Hum Biol* 69(50): 641-652, 1997.
 47. RODRÍGUEZ-LARRALDE A., CASTRO-GUERRA D., GONZALEZ-COIRA M., MORALES J. *Interciencia* 26(1): 8-12, 2001.
 48. CASTILLO C. Caracterización genética del locus D1S80 en Diversas Poblaciones del Estado Zulia (M.Sc. Tesis de Maestría), La Universidad del Zulia, Maracaibo (Venezuela), pp. 54, 2003.
 49. ZABALA W., BORJAS-FAJARDO L., FERNÁNDEZ E., CASTILLO C., SOCA L., PORTILLO MG., SÁNCHEZ M.A., DELGADO W., MORALES-MACHIN A., LAYRISSE Z., PINEDA-BERNAL L. *Am J Hum Biol* 17: 451-459, 2005.
 50. BORTOLINI M.C., ARAUJO DA SILVA JUNIOR W., CASTRO DE GUERRA D., REMONATTO G., MIRANDOLA R., HUTZ M.A., WEIMER T.A., SILVA M.C., ZAGO M.A., ZALZANO F. *Am J Hum Biol* 11: 551-563, 1999.