ADAPTACIONES GENETICAS A LA MALARIA EN POBLACIONES AFROABORIGENES DEL PACIFICO COLOMBIANO

Alvaro Espinel G
Nicole Valenzuela C
Laboratorio de Genética Humana, Universidad de los Andes

El sistema agrícola de tumba y quema - originado hace unos dos mil años en el sudeste africano - se propagó en los bosques pluviales del Africa Occidental y Central, permitiendo la creación de hábitats propicios para el desarrollo de la malaria. La conformación de núcleos humanos más densos que los de los cazadores-recolectores probablemente influyó en el aumento de las condiciones de transmisión de los parásitos *Plasmodia* por las poblaciones de mosquitos anofelinos, tal vez también ayudado por la formación de pantanos en los claros de bosque abandonados después de los cultivos.

El parásito introducido por la picadura de la hembra del mosquito invade las células hepáticas y luego los glóbulos rojos (eritrocitos), destruyéndolos y ocasionando así severas anemias, en algunos casos de carácter mortal. La resistencia a la malaria que presentan los individuos portadores de dos mutaciones genéticas: la hemoglobina (Hb-S) y la deficiencia de Glucosa-6- Fosfato Deshidrogenasa (G6PD-), constituye el factor que probablemente influyó para que estas mutaciones incrementaran su frecuencia principalmente en regiones donde la malaria es endémica, a pesar de los efectos hemolíticos adversos que éstas implican. Tales mutaciones han sido reportadas para poblaciones afroaborígenes de la costa del Pacífico colombiano. En este artículo se reúnen los resultados de varios trabajos realizados en el país en relación a la prevalencia de dichas mutaciones y se comparan con los reportados para algunas poblaciones de Africa.

Ventajas de la hemoglobina anormal en zonas endémicas para la malaria

La hemoglobina es uno de los vehículos más importantes para el transporte de oxígeno y la principal proteína de los eritrocitos. Cada célula de estas contiene más de 270 millones de

moléculas de hemoglobina. Esta proteína consta de cuatro cadenas: 2 alfa con 141 aminoácidos cada una y 2 beta con 144 cada una. Una mutación surgida posiblemente en Africa, la hemoglobina S (Hb-S), consiste en una simple sustitución de un aminoácido en la posición 6 de la cadena beta: el ácido glutámico de la hemoglobina normal (Hb-A) es reemplazado por la valina.

Dado que los humanos poseemos un conjunto genético materno y otro paterno, es posible encontrar en una población con los dos genes (alelos Hb-A y Hb-S) tres combinaciones genotípicas: AA, AS y SS. Los homocigotos AA poseen eritrocitos normales, es decir, son redondos. Los individuos AS presentan un mosaico de células cuando la sangre está en baja tensión de oxígeno: unas células se tornan alargadas, en forma de hoz (*sickle*) - de ahí el nombre de rasgo falciforme - y las otras son normales. Los individuos SS son propensos a tener eritrocitos alargados, lo que ocasiona la susceptibilidad a infartos y baja capacidad de captación de oxígeno. Esta característica los limita a vivir en condiciones donde haya alta presión de oxígeno, por ejemplo a nivel del mar.

El gen que codifica la hemoglobina S alcanza frecuencias hasta de 16%, en zonas de alta incidencia de malaria en Africa Occidental y Central. De esta forma, los heterocigotos -AS- pueden constituir casi el 30% de los individuos al momento del nacimiento y luego incrementar la frecuencia hasta el 35% en los adultos. Los homocigotos -SS- en el nacimiento pueden tener una frecuencia del 2.5%. En la mayor parte del Africa occidental, la frecuencia génica oscila alrededor del 10% y la de los homocigotos alrededor del 1%. En los negros americanos la frecuencia del gene Hb-S es alrededor del 5% (Cavalli-Sforza y Bodmer 1981). Esto se explica porque los heterocigotos - AS - presentan mayor resistencia al paludismo que los homocigotos normales -AA - y no tienen los problemas hemolíticos de los homocigotos -SS- que generalmente fallecen a temprana edad. La resistencia consiste en la incapacidad del parásito para digerir la hemoglobina en cristales que poseen los individuos - AS - por lo cual no pueden alimentarse.

La Glucosa-6 Fosfato Deshidrogenasa, las habas y la malaria

Las habas han sido consideradas parte esencial en la dieta de muchos pueblos. Sin embargo, desde épocas precristianas tuvieron sus detractores. El filósofo griego y reformador religioso Pitágoras, por ejemplo, prohibía que sus seguidores las comieran, o aún que caminaran en los campos donde crecían (Harsanyi y Hutton 1982).

Alexander Falconbridge (1788) cita otro caso de repudio por esta leguminosa cuando describe la reacción de los esclavos en la travesía hacia las Indias:

> "La dieta alimenticia tenía como base haba caballuna, mijo, arroz y ñame sancochados, y de vez en cuando, se les daba una muestra de carne de res. Tal animadversión le tomaban a las habas, que a menos que los estuvieran vigilando, las arrojaban al suelo o al mar, o se las echaban en la cara cuando reñían. Si rehusaban semejante alimentación, les acercaban palas con brasas para quemarles los labios..." (apud. Escalante, 1964).

Afortunadamente ahora contamos con una explicación para tal rechazo y con tratamientos menos drásticos.

Tanto Pitágoras y los esclavos africanos como varios habitantes de Cerdeña, coincidían en su malestar por las habas: favismo. Estos en la primavera presentaban letargo, fiebre, mareo e incluso casos clínicos con hemólisis agudas que podían desembocar en la muerte. El factor común fue descubierto en 1956 por M. Siniscalco, quien diagnosticó una deficiencia en la enzima eritrocitaria Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (G6PD) en tales personas de Cerdeña. Quienes padecen la deficiencia de esta enzima pueden ser víctimas de las habas puesto que las lectinas que éstas contienen, son capaces de romper los glóbulos rojos (hemólisis). Curiosamente, algunos antimaláricos como la primaquina y la quinina, también son agentes de hemólisis en personas deficientes. Es decir, esos fármacos en tales sujetos producen los mismos efectos que la malaria misma. Por otro lado, existe evidencia de que los deficientes en G6PD presentan cierta resistencia natural a la malaria.

La enfermedad hemolítica por deficiencia de la G6PD es más frecuente en hombres por ser ésta una enzima codificada en el cromosoma X. Las mujeres, por tener dos cromosomas X pueden ser portadoras, con un gen deficiente en un cromosoma y el alelo normal en el otro, compensando así la función metabólica. La deficiencia en las mujeres se presenta cuando ambos cromosomas X portan el gen defectuoso.

Las poblaciones estudiadas

En el presente trabajo se presentan los resultados de los análisis efectuados por el Laboratorio de Genética Humana en 1984 en el Chocó (Guineal, Orpúa, Docordó), Barbacoas, Nariño (1989)

y en colaboración con el Instituto de Inmunología del Hospital San Juan de Dios en Tumaco, Nariño (1990). Las muestras colectadas en voluntarios se tomaron con venojet que contenía CPD (Citrato de Sodio, Buffer Fosfato, Dextrosa) como anticoagulante. Luego, en condiciones de refrigeración, eran transportadas al laboratorio donde se separaban las fracciones en alicuotas.

Métodos de análisis de laboratorio

Electroforesis de hemoglobinas: Este método permite la separación de proteínas sometidas a un campo eléctrico. Los eritrocitos son hemolizados. Una muestra del hemolizado es colocado en un gel de acetato de celulosa y sometido a un campo de 100 voltios por 25 minutos en un buffer alcalino, pH 8.3-8.6. Los geles son coloreados con Ponceau-S para visualizar las bandas. El orden de migración hacia el polo positivo en estas condiciones es: A, F, S, C.

Determinación de la deficiencia de la G6PD: Se empleó una prueba colorimétrica, cualitativa, visual (kit 400k-100x Sigma). La prueba se basa en que la G6PD a 6-Fosfogluconato con la reducción del NADP a NADPH, el cual en presencia de fenacina torna el Diclorogenol indofenol en una forma no coloreada. Es decir, la actividad de la enzima es proporcional a la tasa de decoloración de una sustancia. Si no se decolora en el plazo de una hora, la muestra es catalogada como deficiencia.

Resultados

Tabla 1: Frecuencias fenotípicas y alélicas de hemoglobinas en las localidades estudiadas en el Laboratorio de Genética Humana de la Universidad de los Andes.

		%Fenotipo Observado						
%Alélicos Población	N	A	AC	AS	SS	SC	Hb-S	Hb-S
Negros								
Chocó	114	99	10	1	1	3	2.6	5.7
Barbacoas	633	55	4	5	0	0	3.9	3.1
Tumaco	296	83	8	9	0	0	4.7	3.9
Indígenas								
Waunana	52	41	11	0	0	0	0.0	10.6

En la Tabla 1 se presentan los resultados de las frecuencias alélicas para las hemoglobinas S y C. Los valores para el grupo de Chocó, Barbacoas y Tumaco son estadísticamente homogéneos, excepto al compararlos con las frecuencias de los indígenas.

Las frecuencias de Hb-S son homogéneas aún comparándolas con estudios previos en afroaborígenes de la región del Pacífico (ver Tabla 2).

Tabla 2: Frecuencias alélicas de hemoglobinas en poblaciones estudiadas por otros autores en Colombia

Población	Ref	% N	% Hb-A	% Hb-S	% Hb-C	% Hb-D
Negros						
Río San Juan	(1)	95	92.6	7.4	0.0	0.0
Quibdó	(1)	262	91.5	5.3	1.3	1.9
Chocó	(2)	27	94.4	5.6	0.0	0.0
Quibd ó	(3)	1089	94.0	4.0	1.5	0.5
Andagoya, Chocó	(4)	96	91.2	5.7	3.1	0.0
Bahía Solano	(4)	115	93.1	5.2	1.7	0.0
Buenaventura	(5)	727	95.4	4.6	0.0	0.0
Puerto Tejada	(5)	442	94.4	5.6	0.0	0.0
Mulatos						
Puerto Tejada	(6)	489	95.3	4.7	0.0	0.0
Indígenas	(3,7,8,9)	1161	100.0	0.0	0.0	0.0
Mestizos	(1,5)	741	95.5	4.5	0.0	0.0
Colombianos	(4,7,1)	11256	97.4	2.0	0.6	0.0

N es el tamaño de la muestra. Referencias: Restrepo, M.A (1963, 1968, 1979); Rossi-Espagnet et.al (1968); Mera, B (1943); Miyaji, et.al (1966); Arends (1963); Gallango y Arends (1966).

Las frecuencias de Hb-C en nuestras observaciones (Tabla 1) son en general más altas que los valores encontrados en otras localidades, excepto para Andagoya, Chocó. Es notable el aumento de la Hb-C en indígenas Waunana de Unión Balsalito (Tabla 1). Esta población, localizada en el río San Juan, está frente al poblado de negros de Docordó. Tal proximidad permite suponer que dichos genes fueron introducidos por mezcla entre indígenas y negros. No

obstante es curioso que sólo el alelo Hb-C está presente y no el Hb-S. Aunque no es factible tal incremento en los indígenas por efecto de selección, es preferible pensar en procesos estocásticos o deriva genética.

La Tabla 3 representa las frecuencias para Hb-S en una selección de poblaciones de la costa occidental africana. Las frecuencias más semejantes entre la Tabla 3 y los datos de las Tablas 1 y 2, corresponden a los Wolof, Mandingo y Kru. Aunque con esta información no podemos establecer nexos de parentesco precisos entre las poblaciones africanas y las nuestras, es de resaltar que tales poblaciones africanas coinciden con las citadas por los historiadores como posibles focos de esclavos capturados para el comercio en las Indias Occidentales (Escalante, 1964; West, 1956).

Tabla 3: Frecuencia alélica de hemoglobina S en algunas poblaciones del Africa Occidental

País	Población	% Hb-S	N
Guinea	Balanta	1.3	1276
Costa de Marfil	Kru	2.8	4274
Togo	Ewe	2.9	157
Senegal	Wolof	3.3	2277
Gambia	Mandingo	5.4	167
Senegal	Mandingo	5.6	7.1
Mali	Bambara	5.6	854
Guinea	Mandingo	6.8	1395
Ghana	Fanti	7.4	95
Costa de Marfil	Mandingo	8.1	2896
Angola	Chowke	8.5	1709
Liberia	Liberianos	9.2	672
Angola	Lunda	9.3	1205
Congo	Congoleses	9.3	2326
Nigeria	Yoruba	9.9	12387
Benin	Fon	11.6	2643
Ghana	Ashanti	11.4	105
Togo	Ewe	11.6	147
Benin	Yoruba	11.8	1489
Ghana	Ewe	12.0	213
Nigeria	Ibo	12.2	872
Togo	Mina	12.6	250
Costa de Marfil	Ashanti	13.8	87
Angola	Bantu	14.0	186
Angola	Bangala	18.3	698

En la Figura 1 se presenta la distribución de frecuencias de la hemoglobina S en Africa y su correlación espacial con las zonas endémicas para Malaria.

La Tabla 4 muestra la proporción de genes que codifican para la deficiencia en Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (G6PD). Nótese que la frecuencia de esta característica es decreciente si pasamos de negros a mestizos, a blancos y finalmente a indígenas.

Tabla 4: Frecuencia de la deficiencia en G6PD reportada para Colombia

Población	Ref.	N	%Deficiencia
Negros			
Chocó	(1)	126	12.7
Tumaco	(3)	203	16.7
Chocó	(2)	27	22.2
Río San Juan	(2)	96	13.5
Tumaco-Mujeres	(3)	197	5.6
Mestizos			
Medellín	(2)	213	1.4
Tumaco-Hombres	(3)	29	6.9
Tumaco-Mujeres	(3)	29	3.4
Blancos			
Granada (Ant.)	(2)	119	2.5
Indígenas			
Katíos	(2)	45	0.0
Waunana	(1)	56	1.8

N es el tamaño de la muestra. Referencias: 1. Monsalve et.al. (1987); 2. Restrepo M.A. (1968); 3. Espinel A. (1990).

En general los valores para la frecuencia de la deficiencia son homogéneos para Chocó, Tumaco y San Juan. La muestra de Chocó reportada por Restrepo y Gutiérrez (1968) es significativamente elevada (22.2% de deficiencia), posiblemente debido a artefactos del muestreo. También se observa que las mujeres presentan una frecuencia aproximadamente de la mitad de la encontrada en los hombres. Este efecto se explica porque para generar la deficiencia en el género femenino, se precisa de la presencia simultánea de dos genes G6PD- en ambos cromosomas X, mientras que para el género

masculino, con un sólo gene G6PD- en el cromosoma X es suficiente dada la constitución XY. No obstante este valor inferior en el género femenino, la proporción de deficiencia es mayor que la esperada matemáticamente. Es pues que si la proporción G6PD- en Tumaco por ejemplo (ver Tabla 4) para hombres es de 0.167 (q), esperaríamos asumiendo aleatoriedad, que la frecuencia en mujeres fuera de $q^2 = (0.167)^2 = 0.028$. Es decir, esperaríamos 2.8% en contraste con el 5.6% observado. Tal incremento habla en favor de un valor selectivo, presumiblemente por la protección contra la malaria, principalmente en las mujeres heterocigotas. En la Tabla 4 se observa además que los indígenas Waunana de Unión Balsalito y Pichimá presentan genes de origen por tener 1.8% de deficiencia. Esto concuerda con lo visto al analizar la Hb-C.

En la Tabla 5 se presentan los porcentajes de la deficiencia de G6PD en algunas poblaciones del Africa Occidental. En promedio los valores fluctúan alrededor del 17% de deficiencia, muy cercanos a los presentados en la Tabla 4.

Tabla 5: Porcentaje de deficiencia de G6PD en algunas poblaciones africanas.

País	Población	%G6PD	N
Mali	Bambara	4.3	94
Senegal	Mandingo	4.8	208
Gambia	Mandingo (Keneba)	10.2	392
Ghana	Fanti	14.7	95
Liberia	Liberianos	14.9	121
Ghana	Ashanti	16.6	151
Angola	Chowke	17.0	1397
Togo	Ewe	17.0	147
Nigeria	Ibo	20.9	153
Nigeria	Yoruba	22.0	141
Togo	Ewe	22.3	157
Ghana	`Ewe	26.1	88
Senegal	Wolof	33.7	98

Discusión

El concepto de raza no tiene validez biológica, aun cuando se ha empleado para la tipificación poblacional en varios estudios genéticos y antropológicos. Los avances en la biología molecular nos ha permitido establecer que en nuestra especie humana, la variabilidad genética es continua, es decir que a nivel molecular las diferencias determinadas por la piel y otras características no son

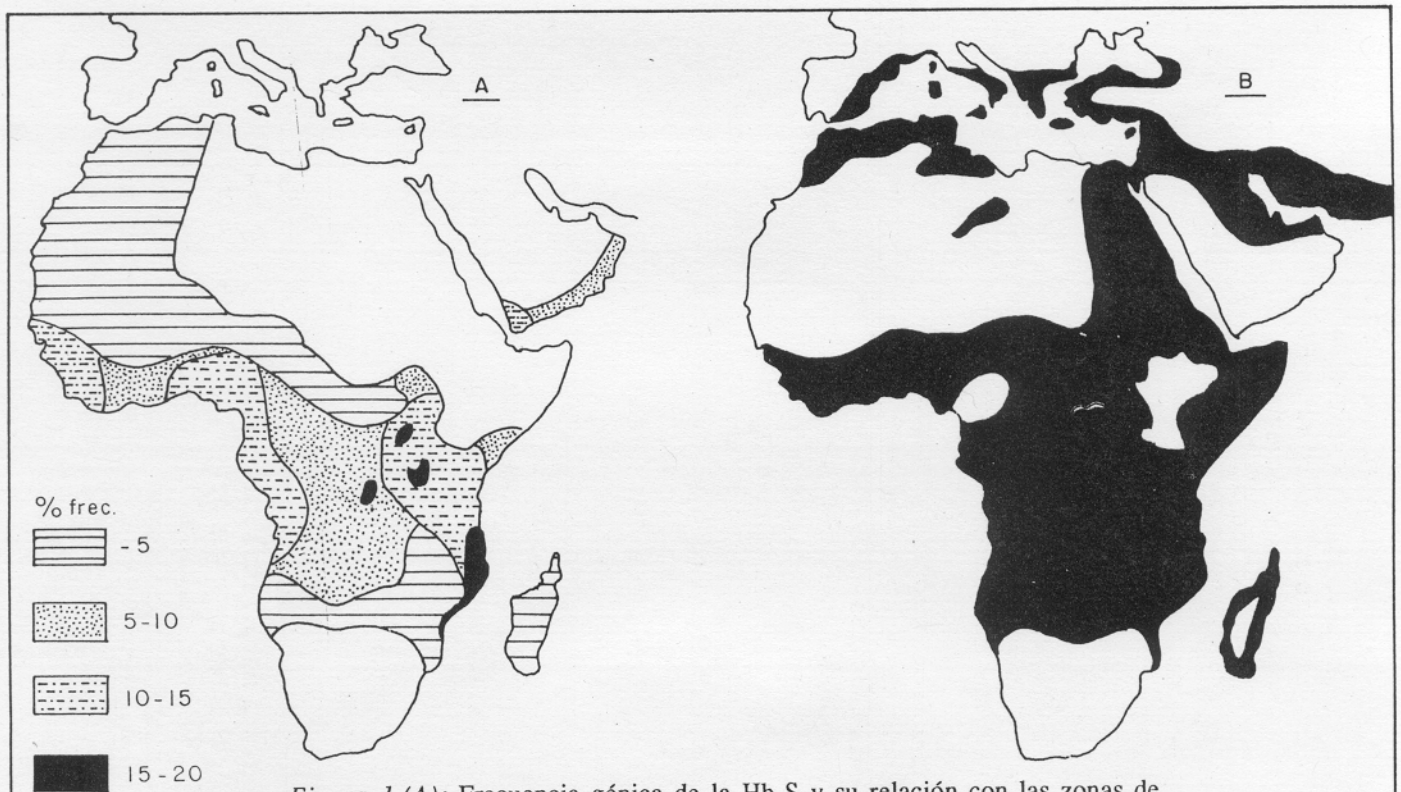

Figura 1.(A): Frecuencia génica de la Hb-S y su relación con las zonas de incidencia de la malaria en el Africa, *Figura 1.(B).*

consistentes con tales categorías (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981; Espinel, 1985). La denominación de razas equivale a clasificar los libros de una biblioteca por la pasta. En un estudio en Brasil la ocurrencia del gen Hb-S en personas supuestamente blancas se encontró que era del 0.6% de 1232 personas en Río de Janeiro, 1.2% de 250 en Belo Horizonte, 0.2% de 928 en Sao Paulo y 0.2% de 439 en Porto Alegre, lo cual confirma la presencia de genes de "negro" en personas fenotípicamente blancas. Ninguno de 3207 amerindios tenía el gen Hb-S (Salzano y Freire-Maia, 1970). No obstante, en un estudio realizado en Porto Alegre, Brasil (Salzano y Freire-Maia, 1970), la incidencia de este gene se mostró correlacionada con la incidencia de características negroides así: mulatos claros: 4%, mulatos oscuros: 7%, negros: 10%.

El colapso de las poblaciones de indígenas en Colombia, así como en muchas otras regiones de las colonias españolas en América, impulsó la importación de esclavos negros desde el Africa como mano de obra para las minas. El Pacífico colombiano fue una zona aurífera de mayor importancia para el imperio español. A pesar de esto, la hostilidad de los indígenas en el Chocó impidió un mayor asentamiento de negros en la zona durante más de un siglo. El pico máximo de población esclava en el Chocó se alcanzó en el último cuarto del siglo XVIII. En 1851 fue decretada la emancipación de los esclavos, con lo cual los negros se extendieron desde las minas por las zonas costeras y ribereñas del Pacífico. Mezclas entre negros, indios y blancos fueron comunes. Con esta expansión afroaborigen, los indios Chocó y Waunana se restringieron en forma voluntaria a las cabeceras en la Serranía del Baudó, para evitar en lo posible el contacto con los negros. Estos últimos se movieron río abajo hacia las mejores tierras para la agricultura (West, 1956).

En Barbacoas no se importaron negros a gran escala sino desde los últimos años del siglo XVII. Cartagena fue el puerto de entrada de negros y mercado oficial de esclavos de la Nueva Granada. El origen africano de éstos se sitúa en la Costa de Guinea y Congo e incluso en el oeste de Angola y Senegal. Algunos apellidos encontrados actualmente entre la población negra de la zona del Pacífico colombiano, así como en los libros de las minas de la época colonial, pueden dar una idea del origen de los antepasados. Esto sucede gracias a la costumbre existente en la época de trata de esclavos de colocarles a los negros como apellido el nombre de la zona donde habían sido capturados. Entre estos apellidos se encuentran Mina, Carabalí, Cetre, Jucunú, Arará, Congo y Mandinga. Los seis primeros parecen correponder a la costa de Guinea, Mandinga es el nombre de una tribu en el actual Senegal y

Congo corresponde a los grupos de la cuenca del bajo Congo, del grupo linguuístico Bantú. Otros apellidos son: Angola, Chambá, Bran, Luango, Cangá, Cambindo, Cuenú y Congolino (Escalante, 1964; West, 1956).

Hemos visto que genes de origen africano están presentes en individuos aparentemente de otras "razas", lo cual le quita validez a la búsqueda de características típicas que definan los grupos raciales. Sin embargo, para propósitos epidemiológicos sería de interés generar un sistema diferencial de dosificación farmacológica dadas las diferencias en la frecuencia de genes que tienen valor clínico. Las hemólisis en deficientes para G6PD es prevenible mediante el control en el suministro de antimaláricos y otros fármacos oxidantes (Ramalho, 1986). En el caso de la anemia falciforme, se ha estimado que es la causa de 100.000 muertes al año en todo el mundo (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981). El control epidemiológico que se hace en algunos países con suficiente cobertura sanitaria involucra la consejería genética en poblaciones con alta incidencia de Hemoglobina S. Tales medidas conllevan a limitar la progenie en parejas heterocigóticas portadoras del gen Hb-S, lo cual a largo plazo implicaría un decremento en este factor de riesgo para infartos y problemas en la administración de anestésicos.

El caso de los genes Hb-S y G6PD- nos muestra que genes considerados como detrimentales en condiciones donde no hay malaria, pueden ser benéficos en zonas endémicas. Esto nos enseña la importancia de la variabilidad genética aún en nuestra especie.

BIBLIOGRAFIA

Allison, A.C.
1956 Sickle Cells and Evolution. En: **Ecology, Evolutions and Population Biology**. W.H. Freeman and Company pp. 21-25. San Francisco.

Arends, T.
1963 Estado actual de las hemoglobinas anormales en Venezuela. **Sangre** 8:1-14.

Ayala, F.J. y Kiger, J.A. Jr.
1984 **Genética Moderna**. Fondo Educativo Interamericano. Barcelona.

Cavalli-Sforza, L.L. y Bodmer, W.F.
1981 **Genética de las Poblaciones Humanas**. Ed. Omega, Barcelona.

Escalante, A.
1964 El Negro en Colombia. **Monografías Sociológicas** #18. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Sociología, Bogotá.

Espinel, A.
1985 Ciencia vs. Racismo. Lecturas Dominicales **El Tiempo**. 10 de Noviembre.

Espinel, A; Arias, S.P; Sicard, D.M; Rojas, M; Amador, R. y Patarroyo, M.E.
1991 **Genetic Polimorphisms in an Endemic Area of Malaria in the Pacific Coast of Colombia**. 1991. (en preparación).

Gallango, M.L; Arends, T.
1966 Haemoglobin types and blood serum factors in Colombian Indians. **Am Genet Stat Med** 16:162-168.

Harsanyi, Z y Hutton, R.
1982 **Genetic Prophecy: Beyond the Double Helix**. Granada ed., Great Britain.

Livingstone, F.B.
1985 **Frequencies of Hemoblobin Variants**. Oxford University Press, New York.

Mera, B.
1943 Preliminares del estudio de la meniscocitemia en Colombia. **Bol Ofic Sanit Pan-Americana** 22: 680-715.

Miyaji, T; Suzuki H; Obha Y; Shibata S.
1966 Hemoglobin Agenogi (alpha2beta2 Lys), a slow moving hemoglobin of a Japanese family resembling HB-E. **Clin Chim Acta** 14: 624-629.

Monsalve, M.V; Espinel, A; Groot de Restrepo, H; Calvo, M; Suárez, M.C; y Rodríguez, A.
1987 Frequency of five genetic polimorphisms in two populations of Colombia. **Rev. Brasil Genet**. X(2):247-251. 1987.

Restrepo Mesa, A.
1968 Hemoglobinas anormales y talasemia. **Antioquia Med** 13:580-593.

Restrepo M., A.
1971 Frequency and distribution of abnormal hemoglobins and thalassemia in Colombia, South America. In T. Arends, G. Benski, R.L. Nagel (eds.) **Genetical, Functional and Physical Studies of Hemoblobins**. S. Karger, pp. 39-52. New York.

1979 Frecuencia y distribución de las hemoglobinas anormales en Colombia, **S.A. Ant. Med**. 20:377-395.

Ramhalho, A.S.
1986 **As Hemoglobinopatias Hereditarias. Un problema de Saude Publica no Brasil**. Soc. Brasilera de Genetica. Sao Paulo, Brasil.

Rossi-Espagnet A; Newell, K.W; MacLennan, R; Mathison, J.B; Mandel SPH.
1968 The Relationship of Sickle Cell Traits to Variations in Blood Pressure. **Am J. Epidemiol** 88:33-44.

Salzano, F.M. y Freire-Maia, N.
1970 **Problems in Human Biology. A Study of Brazilian Populations**. Wayne State University Press, Detroit.

West, R.
1956 **The Pacific Lowlands of Colombia: A Negroid Area of the American Tropics**. Louisiana State University Press.