

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ANTROPOLÓGICAS

ANALES DE ANTROPOLOGÍA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
VOLUMEN XXXII MÉXICO 1995

APORTACIÓN DEL ADN MITOCONDRIAL EN EL ESTUDIO FILOGENÉTICO DE LAS POBLACIONES INDÍGENAS DE AMÉRICA

*Ramón Coral Vázquez, Fabio Salamanca Gómez
y Leonor Buentello Malo**

Unidad de Investigación Médica en Genética Humana,
Coordinación de la Investigación Científica, IMSS

*Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM

Resumen: Los avances de la genética en el estudio de las variaciones del ADN mitocondrial (ADNMT) han ofrecido nuevas herramientas para el análisis y comprensión de la evolución humana. En particular, para dar respuesta molecular a las interrogantes relacionadas con el origen y evolución de los pueblos indígenas de América. La colonización de América fue por una o varias oleadas migratorias, ¿en qué fecha aproximada se dio o dieron éstas y cuántos grupos (linajes fundadores) migraron al continente? En el presente trabajo se discuten las aportaciones de varios investigadores que tratan de dar respuesta a estas inquietudes mostrando las relaciones filogenéticas moleculares de poblaciones indígenas americanas actuales, tomando como base los polimorfismos del ADNMT.

Palabras clave: ADN-mitocondrial, genética humana en poblaciones americanas.

GENÉTICA DEL ADN MITOCONDRIAL

El ADNmt es una molécula circular de 16 569 pares de nucleótidos que codifican para 13 polipéptidos, rARNs 12S y 16S, y los 22 tARNs mitocondriales necesarios para la expresión de los mARNs (Attardi, 1993).

La mayoría de las células humanas contienen cientos de mitocondrias y miles de mtADNs localizados en el citoplasma, su conducta genética es muy heterodoxa (Wallace, 1994). Debido a que el ADNmt es predominantemente transmitido por el citoplasma de los óvulos, se considera que éste es heredado

por rama materna (Giles *et al.*, 1980). Como consecuencia, es difícil que ADNsm_t materno y paterno se mezclen en el mismo citoplasma y hasta ahora no se ha detectado recombinación entre ADNsm_t de distintos linajes (Merrifether *et al.*, 1991; Schurr *et al.*, 1990). Por lo anterior, la única forma en que las secuencias del ADNmt puedan cambiar es mediante la acumulación secuencial de mutaciones en distintos linajes maternos.

La gran tasa evolutiva del ADNmt es consecuencia de su elevada frecuencia de mutación y de su elevada tasa de fijación (Wallace *et al.*, 1994).

Cuando una nueva mutación surge en el ADNmt aparece una mezcla intracelular de ADNsm_t mutantes y normales (heteroplasmia). Al dividirse una célula heteroplásmica el ADNmt se distribuye al azar entre las células hijas durante la segregación mitótica o meiótica. Subsecuentemente, la proporción de moléculas mutantes y normales cambia, de tal manera que las células tienden a ser normales o mutantes (homoplasmia) debido al proceso llamado segregación replicativa (Wallace *et al.*, 1994).

VARIANTES NEUTRAS DEL ADNmt

En la actualidad se sabe que existe un alto grado de variación en la secuencia del ADNmt entre poblaciones geográficamente separadas. Muchas de estas variantes, inicialmente detectadas por polimorfismos en el tamaño de los fragmentos de restricción (RFLPs) (Brown, 1980), son selectivamente neutras e involucran una sustitución de nucleótidos en la posición tres de un codón y en secuencias no codificadoras como las regiones de control. Diferentes estudios han mostrado que variaciones en la secuencia del ADNmt correlacionan con el origen étnico y geográfico de los individuos (Blanc *et al.*, 1983; Denaro *et al.*, 1981; Johnson *et al.*, 1983). Por tal motivo, el análisis de los polimorfismos del ADNmt se ha utilizado en el estudio filogenético de las poblaciones humanas.

ADNmt Y ORIGEN DEL HOMBRE EN AMÉRICA

Los primeros estudios filogenéticos de los pobladores indígenas de América se han llevado al cabo siguiendo varios enfoques, que incluyen el análisis antropométrico de poblaciones nativas actuales, comparaciones lingüísticas y el estudio de construcciones y herramientas antiguas que utilizaron nuestros antepasados.

No obstante, el estudio del origen del hombre americano, y del hombre en general, cambió de manera importante a partir del desarrollo y aplicación de análisis filogenéticos con datos genéticos (Cavalli-Sforza y Edwards, 1965; Fitch y Neel, 1969; Ward y Neel, 1976).

Los marcadores genéticos “clásicos” que han contribuido al conocimiento de los orígenes y afinidades de los distintos grupos indígenas de América son los antígenos de grupos sanguíneos, proteínas séricas y enzimas de células rojas. Estos estudios han mostrado, cuando se han realizado con un arreglo suficientemente grande de loci, que los pueblos aborígenes de América se encuentran genéticamente relacionados con las poblaciones del noreste de Asia. Marcadores genéticos de origen asiático se encuentran en Norte América y Sur América, y los perfiles genéticos de las poblaciones de Sur América son más parecidos a los perfiles genéticos de los de Norte América que los de los polinesios o siberianos (Szathmary, 1993).

Sin embargo, existen controversias sobre el número y época de las migraciones que dieron origen a las poblaciones americanas, y cuántos fueron los linajes fundadores que llegaron al continente. Aunado a esto, los estudios genéticos realizados con varios marcadores genéticos nucleares resultan en una alta complejidad y los mismos loci deben ser estudiados en cada población por comparar, y al menos 30 loci son necesarios para la estabilidad de un dendrograma.

Tomando en cuenta las características genéticas, análisis arqueológicos, antropometría y relaciones lingüísticas se ha postulado una controvertida teoría que plantea que fueron tres las oleadas migratorias que dieron origen a los primeros americanos. Se postula que la primera oleada migratoria tuvo lugar hace 20 000 ó 40 000 años, a este grupo se le ha denominado amerindio y comprende las poblaciones que se sitúan a lo largo de casi toda América. La segunda migración, llamada NaDene, se originó hace 10 000 ó 15 000 años y ocuparon algunas partes de Norte América; por último la oleada migratoria más reciente se presentó hace 4 000 ó 5 000 años, se le ha denominado Eskaleut y se situaron en las zonas más hacia el norte de América (Szathmary, 1993).

Para resolver estas interrogantes actualmente se están realizando estudios genéticos que involucran marcadores genéticos nucleares y mitocondriales. El problema con los marcadores genéticos nucleares es que el ADN es muy complejo y, en consecuencia, tiene una variabilidad muy alta debido a las mutaciones y a los fenómenos de recombinación, factores que complican este tipo de análisis. Por otro lado, la tasa de evolución de los marcadores nucleares es más lenta que la de los marcadores mitocondriales. Por tal motivo,

en años recientes el ADNmt está siendo utilizado para el estudio filogenético de las poblaciones americanas.

Como se mencionó anteriormente, la importancia del ADNmt en lo que se refiere a estudios filogenéticos radica en el hecho de que es una molécula menos compleja que el ADN nuclear, tiene una tasa de mutación más rápida y la herencia es únicamente materna. Además, los cambios en la secuencia del ADNmt están dados únicamente por mutaciones debido a que no existe recombinación (Wallace, 1994).

Las estrategias utilizadas para los estudios evolutivos se han basado en el aislamiento del ADN total o mitocondrial, la amplificación específica de ciertas regiones del ADNmt por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Saiki *et al.*, 1985) y la digestión de los productos amplificados con enzimas de restricción (Watson *et al.*, 1992), que son proteínas bacterianas que reconocen secuencias específicas sobre el ADN. Si una secuencia de ADN no es específica para determinada enzima de restricción, ésta no puede cortar ese genoma. De esta forma, mutaciones sobre el ADNmt pueden ocasionar la pérdida o aparición de sitios de corte para una enzima en particular. Otro modo de realizar los estudios filogenéticos es comparando en los individuos las secuencias del ADNmt que se conoce son hipervariables. También se ha estudiado una región de nueve nucleótidos que puede estar presente una o repetida dos veces, dependiendo de la población estudiada.

Uno de los primeros grupos de investigadores que utilizó el ADNmt en el estudio filogenético de poblaciones americanas fue el de Wallace *et al.* (1985). Estos investigadores estudiaron los polimorfismos de restricción del ADNmt de una población de amerindios localizada en el suroeste de Estados Unidos. Comparó los patrones de restricción con los observados en poblaciones europeas, africanas y asiáticas. Lo interesante del estudio fue que encontró un haplotipo característico de la población americana que también se presenta en una proporción mucho menor en poblaciones asiáticas. Además, observaron ADNsmt que no habían sido detectados en otros continentes. A partir de estos datos se sugirió que las tribus amerindias fueron fundadas por un pequeño número de linajes fundadores, y después de que estas poblaciones llegaron a América se dispersaron y dieron origen a nuevos linajes, propios de los americanos. Una de las críticas a este trabajo es que solamente se estudió una población amerindia, lo que puede propiciar que se hayan encontrado pocos linajes fundadores.

Posteriormente, se realizaron estudios similares en otras poblaciones amerindias, los pima de Norte América, una de Centro América, otra maya de Yucatán y una más brasileña llamada ticuna (Schurr *et al.*, 1990). En este

estudio se observaron cuatro mutaciones asiáticas raras que están representadas en más del 30% de los individuos de al menos dos de las poblaciones estudiadas. Esto llevó a proponer que los amerindios derivaron de cuando menos cuatro linajes maternos, y después de cierto tiempo de dispersión y aislamiento de las poblaciones se crearon variantes propias.

En un estudio posterior se analizaron los polimorfismos del ADNmt de 87 individuos amerindios de las poblaciones anteriormente mencionadas y de otros 80 nadene de poblaciones de Alaska, Canadá y Estados Unidos (Torrioni *et al.*, 1992). El análisis se efectuó mediante la amplificación por PCR del ADNmt total de cada individuo en nueve reacciones diferentes y cada fragmento amplificado se dirigió con 14 enzimas de restricción, lo que permitió el análisis de aproximadamente 10% de la secuencia del ADNmt (373 sitios del genoma mitocondrial). En la investigación se observó que todos los ADNsm de los nativos de América se agrupaban en uno de los cuatro linajes distintos observados (denominados A, B, C y D), definidos por variantes en los sitios de restricción y por una eliminación intergénica. Con estos datos se postuló que los cuatro haplotipos podrían corresponder a los linajes femeninos fundadores de las poblaciones de América. Asimismo, se observaron haplotipos específicos para cada grupo. Por otro lado, analizando el número de variaciones que presentó el ADNmt en los amerindios y nadene con respecto a los haplotipos fundadores, se pudo estimar el tiempo necesario para que ocurrieran estos cambios. De esta forma se calculó que las poblaciones amerindias llegaron a América hace 15 000 a 30 000 años y que la migración de los nadene tuvo lugar hace 10 000 a 15 000 años. Estas estimaciones correlacionan con la hipótesis de las oleadas migratorias que sugiere que los primeros americanos llegaron hace 20 000 a 40 000 años.

En un estudio más exhaustivo se determinaron los polimorfismos del ADNmt en 321 individuos de 17 poblaciones nadene y amerindias de Alaska, Canadá, Groenlandia, Norte, Centro y Sur América (Torrioni *et al.*, 1993). Los datos obtenidos se compararon con los resultados previos del ADNmt de otras cinco poblaciones americanas y con datos de varias de Asia. El análisis reveló la existencia de los cuatro haplotipos de grupo (haplogrupos A, B, C y D) en los amerindios, pero sólo un haplogrupo (A) en los nadene, confirmando el origen independiente de amerindios y nadene. Además, cada haplogrupo parece haber sido originado por un solo haplotipo del ADNmt, resultando que es consistente con la hipótesis del efecto fundador.

En contraposición con la hipótesis de las diferentes oleadas migratorias están los datos publicados por Merriwether *et al.* (1995). Estos investigadores,

al comparar los datos de distintas referencias, observan que la distribución de los cuatro haplogrupos (linajes fundadores) en nativos de Norte, Centro y Sur América muestra un incremento en la frecuencia del linaje B de norte a sur, y un decremento en la frecuencia del linaje A de norte a sur. Todos los linajes fundadores fueron detectados en Norte, Centro y Sur América, y en tres grupos lingüísticos (amerindio, nadene y eskaleut), con los cuatro haplogrupos frecuentemente encontrados en una misma población. El haplogrupo A fue el linaje más común en Norte América, sin importar el grupo lingüístico. A partir de estas observaciones se plantea que la distribución de los haplogrupos es más afín con una simple oleada migratoria dentro del Nuevo Mundo, la cual incluyó múltiples variantes de los cuatro tipos de linajes fundadores. Alternativamente, se menciona que también pudieron ocurrir múltiples oleadas migratorias, de una sola población parental de Asia/Siberia, que repetidamente reintrodujeron el mismo linaje al Nuevo Mundo.

Aunado a lo anterior, el mismo grupo (Easton *et al.*, 1996), al realizar un estudio de los polimorfismos del ADNmt de 83 individuos pertenecientes a la población de Yanomami de Brasil, determinó que, además de los linajes fundadores ya mencionados, existen otros tipos de linajes mitocondriales fundadores de nativos de América que no habían sido reconocidos. Adicionalmente, los autores afirman que la amplia distribución de estos haplotipos en el Nuevo Mundo y en Asia provee apoyo para sugerir que estos linajes son tipos fundadores de las poblaciones indígenas de América.

Un resultado semejante al anterior fue publicado por el grupo argentino de Bianchi (1994), en el que se analizaron una población indígena de Perú, dos de Argentina y una de Chile. Estos investigadores encontraron datos que también sugieren la presencia de otros linajes mitocondriales originales y proponen que esto puede deberse a un mayor número de oleadas migratorias o que en una misma oleada llegaron más haplotipos fundadores.

En lo que respecta al origen asiático de los primeros pobladores de América, un estudio reciente desarrollado por Merriwether *et al.* (1996) en 42 individuos mongoles de Ulan Bator mostró que 64% de ADNsm tuvieron la mayoría de los haplotipos amerindios fundadores determinados por los distintos grupos. Estos datos, junto con la observación de que el linaje B está ampliamente distribuido en el Nuevo Mundo y ausente en Siberia, les permitió proponer que Mongolia o una zona geográfica común para aborígenes mongoles y americanos fuera muy probablemente el origen de los fundadores de América.

En México solamente se ha estudiado el ADNmt de poblaciones mixtecas y mayas, determinándose en ellas los haplogrupos fundadores antes men-

cionados (Torroni *et al.*, 1994). Por esta razón, sería de gran interés trabajar con poblaciones mexicanas que van de norte a sur y saber si conservan los cuatro haplotipos originales u otros linajes fundadores, y si tienen haplotipos población-específicos. Esto permitiría conocer las relaciones filogenéticas intra e intergrupo.

En resultados preliminares nuestro grupo de investigación ha encontrado en un estudio en la población mixteca (Salamanca *et al.*, 1995) que la mayoría de los casos corresponden al haplogrupo A; pero cerca de una tercera parte de los casos fue positiva para el sitio de restricción D de I-10394, que contribuye a definir los haplotipos C y D, este último prácticamente ausente en los amerindios de América Central.

Abstract: Genetic findings in the study of DNA mitochondrial variations have offered new tools for the analysis and understanding of human evolution. Specifically, the study provides molecular answers to some of the questions relating to the origin and evolution of Native American peoples. If America was populated through several migratory waves, in approximately what dates would this have happened, and how many groups (founding lineages) migrated to the continent? The present work discusses contributions made by several researchers who attempt to resolve these questions, showing molecular phylogenetic relationships in present day Native American populations, based on polymorphisms of mitochondrial DNA.

Keywords: Mitochondrial DNA, human genetics in American populations.

REFERENCIAS

ATTARDI, G.

1993 The human mitochondrial genetic system. S. Dimauro y D. C. Wallace (eds.), *Mitochondrial ADN in human pathology*, pp. 9-25, Raven Press, Nueva York.

BAILLETTI, G., F. ROTHHAMMER, F. R. CARNESE, C. M. BRAUI Y N. O. BIANCHI

1994 Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *American Journal of Human Genetics*, 5: 27-33.

BLANC, H., K. H. CHEN, M. A. D'AMORE Y D. C. WALLACE

1983 Amino acid change associated with the major polymorphic HincII site of Oriental and Caucasian mitochondrial DNAs. *American Journal of Human Genetics*, 35: 167-176.

BROWN, W. M.

- 1980 Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 3605-3609.

CAVALLI-SFORZA, L. L. Y A. W. F. EDWARD

- 1967 Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*, 19: 233-257.

DENARO, M., H. BLANC, M. J. JOHNSON, K. H. CHEN *ET AL.*

- 1981 Ethnic variation in HpaI endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 5768-5772.

EASTON, R. D., D. A. MERRIWETHER, D. E. CREWS Y F. E. FERREL

- 1996 mtDNA variation in the Yanomani: evidence for additional New World founding lineages. *American Journal of Human Genetics*, 59: 213-225.

FITCH, W. M. Y J. V. NEEL

- 1969 The phylogenetic relationships of some Indian tribes of Central and South America. *American Journal of Human Genetics*, 21: 384-397.

GILES, R. E., H. BLANC, H. M. CANN Y D. C. WALLACE

- 1980 Material inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 6715-6719.

JOHNSON, M. J., D. C. WALLACE, S. D. FERRIS, M. C RATTAZZI *ET AL.*

- 1983 Radiation of human mitochondrial DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J. Mol. Evol.*, 19: 255-271.

MERRIWETHER, D. A., A. G. CLARK, S. W. BALLINGER, T. G. SCHURR *et al.*

- 1991 The structure of human mitochondrial DNA variation. *J. Mol. Evol.*, 33: 543-555.

MERRIWETHER, D. A., F. ROTHAMMER Y R. E. FERRELL

- 1995 Distribution of the four founding lineage haplotypes in native Americans suggests a single wave of migration for the New World. *American Journal of Physical Anthropology*, 96: 411-428.

MERRIWETHER, D. A., W. W. HALL, A. VAHLNE Y R. E. FERRELL

- 1996 mtDNA variation indicates Mongolian may have been the source for the founding population for the New World. *American Journal of Human Genetics*, 59: 204-212.

- SAIKI, R. K., F. SCHARF, K.B. FALOONA, G.T. MULLIS *ET AL.*
 1985 Enzymatic amplification of alfa-globin genomic sequences and restriction site analyses for diagnoses of sikle cell anemia. *Science*, 230: 1350-1354.
- SALAMANCA, F., R. CORAL, R. PEÑALOZA, D. ARENAS, M. GONZÁLEZ, C. BARRIENTOS Y L. BUENTELLO
 1995 Molecular studies of Mendelian disorders, embriogenic neoplasias and polimorphisms in selected samples at the general population. A Contribution to the genetic characterization of the Mexican population. *Arch. Med. Res.*, 26: 69-75
- SCHURR, T. G., S. W. BALLINGER, Y-Y. GAN, J. A. HODGE *ET AL.*
 1990 Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies suggesting they derived from four primary maternal lineages. *American Journal of Human Genetics*, 46: 613-623.
- SZATHMARY, E. J. E.
 1993 mtDNA and the peopling of the Americas. *American Journal of Human Genetics*, 53: 793-799.
- TORRONI, A., T. G. SCHURR, C-C. YANG, E. J. E. SZATHMARY *ET AL.*
 1992 Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were found by two independent migrations. *Genetics*, 130: 153-162.
- TORRONI, A., T. G. SCHURR, M. G. CABELL, M. D. BROWN *ET AL.*
 1993 Asian affinities and continental radiation of the four founding native American mtDNAs. *American Journal of Human Genetics*, 53: 563-590.
- TORRONI, A., Y-S. CHEN, O. SEMINO, A. SILVANA *ET AL.*
 1994 mtDNA and Y-chromosome polymorphisms in four native American populations from Southern Mexico. *American Journal of Human Genetics*, 54: 303-318.
- WALLACE, D. C.
 1994 Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 8739-8746.
- WALLACE, D. C., K. GARRISON Y W. C. KNOWLER
 1985 Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNAs. *American Journal of Physical Anthropology*, 68: 149-155.

WATSON, J. D., M. GILMAN, J. WITKOWSKI Y M. ZOLLER

1992 *Recombinant DNA*. Scientific American Books, 2nd Edition, pp. 63-67,
Nueva York.

WARD, N. H. Y J. V. NEEL

1976 The genetic structure of a tribal population, the Yanomama indians.
Clines and their interpretation. *Genetics*, 82: 103-121.