

Polimorfismos con valor selectivo en ambientes de altura

Viviana Gabriela Broglio^{1,3}, María Virginia Albeza^{1,2,3}, Noemí Estela Acreche^{1,2,3}, Graciela Beatríz Caruso^{1,3} y Silvia De la Fuente⁴

1. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta

2. Facultad de Humanidad, Universidad Nacional de Salta

3. Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta

4. Hospital de Endocrinología y Metabolismo "Doctor Arturo Oñativia"

Avenida Bolivia 5150 (4400) Salta

mvalbeza@unsa.edu.ar

RESUMEN

Los polimorfismos de heterocromatina constitutiva en nuestra especie son variantes estructurales que se ubican en segmentos específicos e incluyen regiones centroméricas y paracentroméricas de los cromosomas 1, 9 y 16 y la región terminal del brazo largo del cromosoma Y. Los mismos se detectan con técnicas citogenéticas de bandeado C. Se ha postulado que la cantidad de heterocromatina jugaría un rol importante en condiciones ambientales extremas: individuos con menor cantidad de heterocromatina se adaptarían mejor a condiciones de hipotermia e hipoxia. En el presente trabajo se analizan diferencias de tamaño y posición de bandas heterocromáticas entre dos poblaciones con características ambientales diferentes (Puna y Chaco) de la provincia de Salta. A través del análisis cuantitativo de las longitudes de cromosomas y bandas se encuentran diferencias entre ambas poblaciones, siendo las bandas de menor tamaño en individuos que habitan zonas altas, resultado que puede estar vinculado con la acción de la selección natural. El otro factor evolutivo que puede ser determinante para explicar las diferencias en el tamaño de las bandas C, es la deriva génica. La acción de este factor se evidencia en poblaciones pequeñas, como las de Puna. De los resultados obtenidos es posible considerar que la variabilidad de heterocromatina constitutiva es informativa para establecer diferencias genético poblacionales entre grupos étnicos que habitan diferentes ambientes.

Palabras clave

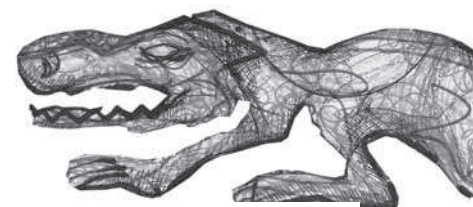
Citogenética, selección natural, deriva génica, heteromorfismos

ABSTRACT

In most organisms, constitutive heterochromatin occurs around the chromosome centromere and near telomeres. In the human chromosomes 1, 9, 16, and the Y-chromosome contain large regions of constitutive heterochromatin. Heterochromatin is detected by cytogenetics techniques. It has been suggested that the amount of heterochromatin plays an important role in extreme environmental conditions: individuals with small amounts of heterochromatin are better adapted to hypothermia and hypoxia conditions. In this work we analyze band size differences and position in two populations of Salta in different environments (Puna and Chaco). According to quantitative analyses, there are differences between the studied populations, with smaller bands in individuals at high altitude, that may be related with natural selection. Genetic drift is the other process which can explain the differences observed. We conclude that constitutive heterochromatin is informative to genetics differences between ethnics groups.

Key words

Cytogenetics, natural selection, genetic drift, heteromorphisms



Los polimorfismos cromosómicos de heterocromatina constitutiva son variantes estructurales localizadas en segmentos específicos (regiones centroméricas y paracentroméricas de los cromosomas 1, 9 y 16, la región terminal del brazo largo del cromosoma Y, brazos cortos y satélites de cromosomas acrocéntricos) (Angell y Jacobs, 1975; Harrison *et al*, 1985; Hultén *et al* 1995; Ibraimov, 1993) que presentan variación del tamaño de la porción de heterocromatina entre homólogos –heteromorfismo– (Craig-Holmes y Shaw, 1971).

La heterocromatina tiene correspondencia con secuencias que no funcionan como codificadoras, se heredan en forma mendeliana, no mutan frecuentemente (Craig-Holmes y Shaw, 1971; Ibraimov, 1993; Kosower *et al*, 1995; Nand *et al*, 1981; Retyk-Jeison, 1995) y no cambian durante la ontogénesis.

Es difícil considerar este ADN genéticamente inactivo, suponiéndose funciones específicas:

1. "Efectos de posición" (activación e inactivación de genes adyacentes)
2. Participación en el entrecruzamiento de cromátides hermanas en la mitosis
3. Rol estructural u organizativo del núcleo y cromosomas
4. Reconocimiento de cromosomas homólogos y participación en el apareamiento cromosómico en la meiosis
5. "Protección" de genes estructurales
6. Depósito de secuencias de ADN (no esenciales) para su uso en la evolución
7. Ninguna función (ADN acarreado a través del proceso de replicación y segregación de los cromosomas).

Ibraimov (1993, 1998 a, b, c) afirma que tiene "valor selectivo", varía de una población a otra debido a factores ambientales más que raciales o étnicos. Observó que pobladores de zonas altas (y latitudes boreales) presentan menor cantidad de heterocromatina y de variantes, comparados con habitantes de zonas templadas y bajas. Propone que la cantidad de heterocromatina jugaría un rol importante en condiciones ambientales desfavorables: individuos con menor cantidad se adaptarían mejor a condiciones de frío e hipoxia.

Este trabajo aporta datos a los ya analizados en poblaciones del NOA (Acreche, 2006; Acreche y Albeza, 2001; Acreche *et al*, 1999; Acreche *et al*, 1996; Albeza *et al*, 2002; Caruso *et al*, 1999 a; Caruso *et al*, 1999 b) abordando el problema de adaptación a ambientes de altura y estudiando la variabilidad genética intra e interpoblacional en polimorfismos de heterocromatina constitutiva.

Se analizaron dos muestras de poblaciones de altura: Cobres (departamento La Poma) y Tolar Grande (departamento Los Andes) pertenecientes a la región de la Puna en Salta y una de zonas bajas que incluye individuos de la región de la llanura chaqueña residentes en Salta.

La Puna comprende los departamentos de Los Andes, parte del de La Poma y del de Rosario de Lerma. Sus características climáticas, topográficas y productivas son factores importantes que provocan el aislamiento de las poblaciones.

Cobres, a 71 km de San Antonio de los Cobres a 3880 msnm, posee un conglomerado de 22 viviendas (12 ocupadas en el momento en que se recolectaron las muestras) y 18 que se distribuyen desde la bifurcación de Cangrejillos (49 km al sur de Cobres) hasta Cerro Negro (20 km al norte). Con una población de 140 personas (incluyendo puestos desde

Potrerrillos hasta Rangel), presenta una razón sexual de 70,73 y una relación niños-mujeres de 818,18. Parámetros biodemográficos indican que es una población vieja (7,09 % mayores de 65 años) sujeta a deriva (Coeficientes de Aislamiento Reproductivo de 1,76 y de Endogamia de 0,08) (Caruso *et al*, 1999 b).

Tolar Grande presenta la más alta tasa de migración (0,77) de las poblaciones puneñas estudiadas y Coeficientes de Aislamiento Reproductivo (13,51) y de Endogamia (0,00) atípicos para la región. Se registraron 99 habitantes, con una razón sexual de 65,00; es una población joven (4,04 % mayores de 65) con elevada relación niños-mujeres (1043,48) (Albeza *et al*, 2002).

El Parque Chaqueño, en Salta, abarca los departamentos de San Martín y Rivadavia, la región oriental de los departamentos de Orán y Anta y el Oeste de los de Metán y Rosario de la Frontera.

En la región chaqueña se encuentran comunidades que pertenecen a 4 familias lingüísticas: Mataco-Mataguayo (Matacos, Chorotes y Chulupíes); Gaucurú (Tobas, Pilagáes y Mocovíes); Arawak (Chané) y Tupí Guaraní (Chiriguano).

Considerando que la Puna supera en sectores los 5000 msnm y el Chaco se ubica entre los 500 y 250 msnm, se constituyen en extremos en cuanto a esta característica.

En las Escuelas de Cobres, Esquina de Guardia y Tolar Grande se obtuvieron las muestras de las poblaciones puneñas incluyéndose las de pobladores cuyos padres prestaron explícitamente su consentimiento.

Para la población de zona baja se analizaron muestras de individuos obtenidas en el Hospital Oñativia y se seleccionaron aquellas cuyos ascendientes nacieron en la región chaqueña y prestaron conformidad para su inclusión.

Se realizaron bandeos CBG y GTG siguiendo protocolos estándares. Se estudiaron 14 metafases / individuo midiéndose bandas y cromosomas. Se realizaron 13605 mediciones (longitud total de los cromosomas 1, 9 16 e Y, sus bandas y brazo corto del cromosoma 16).

Se registró la variabilidad de las bandas heterocromáticas con relación al valor del brazo corto del cromosoma 16 (análisis semicuantitativo) (Patil y Lubs, 1977) y se clasificaron en niveles.

Para el análisis cauntitativo se trabajó con medidas absolutas obtenidas con microscopio óptico. Se analizaron 102 individuos: 52 de la Puna (27 varones y 25 mujeres) y 50 del Chaco (21 varones y 29 mujeres).

Ante la falta de sistematicidad en el número mínimo de metafases a estudiar, se determinó que la longitud de cromosomas y bandas tiene diferentes patrones de variación por lo que el tamaño de las muestras debe ser diferente.

El tamaño de las bandas C y de los cromosomas, es una variable continua; su categorización es arbitraria y la clasificación puede resultar subjetiva (métodos cualitativos).

Frente a estas deficiencias se optó por realizar análisis cuantitativo y semicuantitativo.

No se observaron, a partir de bandedo G, variantes numéricas y/o estructurales, ni inversiones pericéntricas totales y/o parciales de las regiones heterocromáticas.

Las diferencias entre medias de las longitudes de las bandas C (análisis cuantitativo) de ambas regiones resultan altamente significativas (menores para la Puna) pero no pueden ser explicadas por el tamaño de los cromosomas ya

	Variable	N	V. Mínimo	V. Máximo	Media	SD		
PUNA	Cromosoma	1	1022	4,197	13,524	8,563**	1,459	
		9	1424	1,321	9,172	5,240	0,831	
		16	691	1,788	5,518	3,546**	0,508	
		Y	156	1,943	3,109	2,312**	0,200	
	Banda C	1	1022	0,777	2,409	1,504**	0,257	
		9	1424	0,466	2,176	1,244**	0,223	
		16	691	0,389	1,865	1,040**	0,224	
		Y	156	0,855	1,788	1,157**	0,135	
	CHACO	Cromosoma	1	1004	4,508	13,369	7,918**	1,514
			9	1402	1,399	7,773	5,264	0,797
			16	609	1,244	5,596	3,451**	0,458
			Y	98	2,021	3,342	2,434**	0,233
Banda C		1	1004	1,010	2,643	1,603**	0,226	
		9	1402	0,933	5,596	1,442**	0,189	
		16	610	0,700	3,264	1,208**	0,194	
		Y	98	1,010	1,865	1,279**	0,170	

Tabla 1
Parámetros estadísticos - cromosomas 1, 9, 16 e Y

que en los cromosomas 1 y 16, la relación se invierte, siendo significativamente mayores en la Puna, con correlaciones positivas (Tabla 1).

Esta correlación resalta la diferencia entre el tamaño de las bandas de ambas poblaciones, se esperaría que si es mayor la media de la longitud del cromosoma, la media de la longitud de la banda debería serlo también.

En el cromosoma 1 (2044 mediciones para la Puna y 2008 para el Chaco) la longitud media de la banda C es significativamente menor en la Puna, mientras que la media de la longitud total del cromosoma lo es en el Chaco ($p < 0,000$) (Tabla 1).

La correlación entre el tamaño del cromosoma y la banda C resulta positiva y altamente significativa ($r = 0,525$ y $p < 0,000$): a mayor tamaño del cromosoma, mayor tamaño de la banda y viceversa.

Las bandas C de los cromosomas 1 de la Puna distribuyen entre los niveles 2 y 4, y en el Chaco entre el 2 y el 3 no siendo significativas las diferencias de distribución ($p = 0,256$).

En el cromosoma 9 (2848 mediciones para la Puna y 2804 para el Chaco), la media de la banda C también es significativamente menor en la Puna ($p < 0,000$). La diferencia entre las medias de la longitud total del cromosoma no es significativa ($p = 0,424$) (Tabla 1). La correlación tamaño del cromosoma y la banda resulta positiva y altamente significativa ($r = 0,442$ y $p < 0,000$).

En la muestra de la Puna las bandas C distribuyen entre los niveles 1 y 4 y en la del Chaco entre el 2 y 3 con diferencias de distribución significativas ($p = 0,039$).

En el cromosoma 16 coinciden los resultados con los obtenidos para el cromosoma 1 y 9 con medias de banda

C significativamente menores en la Puna ($p < 0,000$) y una longitud total del cromosoma 16 significativamente menor en el Chaco ($p < 0,000$) (Tabla 1).

La correlación entre el tamaño del cromosoma y la banda C para cada población resulta positiva y altamente significativa ($r = 0,541$ y $p < 0,000$).

Las longitudes de las bandas C en la Puna distribuyen entre los niveles 1 y 3 y las del Chaco entre 2 y 3 con diferencias de distribución altamente significativas ($p < 0,000$).

En el cromosoma Y, la media de la banda C es significativamente menor en la Puna al igual que la longitud total del cromosoma ($p < 0,000$) (Tabla 1). La correlación tamaño del cromosoma - banda para cada población resulta positiva y altamente significativa ($r = 0,770$ y $p < 0,000$).

Las bandas C en la Puna distribuyen entre los niveles 1 y 4 y las del Chaco entre 2 y 3 con diferencias de distribución no significativas ($p = 0,623$).

La presencia de bandas C significativamente diferentes entre ambas regiones y de menor tamaño en los habitantes de la Puna coincide con la hipótesis de Ibraimov (1993, 1998 a, b).

Se afirma que el tamaño de la banda C del cromosoma Y caracterizaría a poblaciones o subpoblaciones (Hamerton, 1971) siendo propio de un grupo étnico determinado (Dutrillaux, 1981; De Grouchy y Turleau, 1978). Estas diferencias estarían relacionadas con la acción de deriva génica, selección natural (diferenciación mediante fluctuaciones al azar o por adaptación a medios locales respectivamente) y flujo génico (contrarrestaría la diferenciación entre grupos locales).

Las diferencias detectadas en la Puna y el Chaco harían suponer que, siendo un carácter adaptativo, la selección

natural favorecería una variante determinada en un ambiente dado. Efecto difícil de probar ya que es necesario estimar diferencias de fertilidad y viabilidad (nacimientos y muertes diferenciales asociados al tamaño del bloque de heterocromatina) analizándose supervivencia y varianza del número de hijos de portadores de distintas variantes, parámetros sujetos a factores socioeconómicos y a la acción conjunta de otros genes.

La deriva génica puede ser determinante para explicar las diferencias en el tamaño de bandas C. La acción de este factor se evidencia en poblaciones pequeñas, habiéndose estimado sus efectos en estas localidades puneñas (Albeza *et al*, 2002; Caruso *et al*, 1999 b).

Buckton *et al* (1976) atribuyen a la endogamia las diferencias cualitativas en el tamaño de bandas C encontradas en poblaciones de ambientes distintos lo que indicaría que la deriva génica provoca diferenciación, pese a no ser mencionado.

Si bien no se puede afirmar cuál de los factores (deriva génica o selección natural) da cuenta de las diferencias encontradas, se desprende que la variabilidad de heterocromatina constitutiva es informativa para establecer diferencias genético poblacionales entre grupos de diferentes ambientes.

Contrariamente a lo esperado, por su carácter de semiaislado, la Puna presenta mayor rango de variación, ya que las bandas C distribuyen en al menos tres niveles.

Al comparar la distribución por niveles con datos de diez poblaciones (Retyk-Jeison, 1995; Ibraimov *et al*, 1982), la diferencia resulta altamente significativa ($p < 0,00$). Esto señala que la clasificación por niveles de la distribución de las bandas C permite diferenciar, en algunos casos, al menos semicuantitativamente, las distintas poblaciones, resaltando el carácter informativo de polimorfismos de heterocromatina.

Es previsible la acción de la selección natural sobre las poblaciones puneñas teniendo en cuenta las condiciones ambientales extremas. Altas radiaciones, baja humedad, hipoxia, bajas temperaturas, exposición a agentes mutágenos como arsénico, etc. se asocian a caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos portados por habitantes de estas zonas. Brooke-Thomas (1977), Dulout *et al* (1996), Frisancho (1996), Paulotti (1949), Salzano y Callegari-Jacques (1988) y Vahter *et al* (1995) indican que se trataría de verdaderos procesos adaptativos más que de respuestas fisiológicas.

Es factible entonces proponer que los habitantes de estas zonas son portadores de combinaciones de genes que les otorgan mayor eficacia biológica en este ambiente, resultado de la acción de la selección natural, siendo posible explicar las diferencias de tamaño de las bandas C entre las regiones de la Puna y del Chaco.

Los resultados obtenidos y analizados están relacionados con dos de las funciones de la heterocromatina: activación y desactivación de genes (la selección natural actuaría sobre ella a pesar de que no codifique proteínas) y que las secuencias de ADN altamente repetidas que contiene la heterocromatina son para su uso en la evolución.

Otro punto a considerar es el significado de plantear las diferencias de estos polimorfismos como causa étnica o racial asociadas a un ambiente. El término racial o raza sugiere la posibilidad de distinguir grupos de individuos biológicamente semejantes entre sí y muy diferentes a otros grupos, desconociendo la existencia de la variabilidad intrapoblacional. Esto no implica ignorar diferencias morfológicas, fisiológicas, etc.

entre poblaciones que habitan distintas áreas geográficas. En este caso se consideran las estrictamente genéticas siendo necesario replantear su alcance y significado.

REFERENCIAS

- Acreche, N. 2006. Microevolución en Poblaciones Andinas. Continuos Salta SH, Salta. ISBN: 987-05-0414-0
- Acreche, N y Albeza, MV. 2001. El Pichao: Población Actual - Parámetros Biodemográficos. En: Investigations at El Pichao. Introduction to studies in the Santa Maria Valley, North-Western Argentina. BAR International Series 978, Oxford. pp: 195-203.
- Acreche, N; Broglio, V; Caruso, G y Albeza, MV. 1999. Chicoana (Salta): Genética y Población. Rev. Arg. de Antropología Biológica 2: 257-266.
- Acreche, N; Caruso, G y Albeza, MV. 1996. Distancias Genéticas en Poblaciones del NOA. Rev. Arg. de Antropología Biológica 1(1): 139-152.
- Albeza, MV; Acreche, N y Caruso, G. 2002. Biodemografía en Poblaciones de la Puna (Chañarcito, Santa Rosa de los Pastos Grandes y Olacapato) - Salta, Argentina. Chungará Revista de Antropología Chilena 34 (1): 119-126. Universidad de Tarapacá, Arica.
- Angell, R and Jacobs, P. 1975. Lateral Asymmetry in Human Constitutive Heterochromatin. Chromosoma. 51: 301-310.
- Brooke-Thomas, RB 1977. Adaptación Humana y ecología de la Puna. Pastores de Puna. Uywamichiq punarunakuna. (3): 87-111. IEP Ediciones. Lima. Perú.
- Buckton, KE; ML O'riordan; P Jacobs; J Robinson; R Hill & HEvans. 1976. C- and Q-band polymorphisms in the chromosomes of three human populations. Ann. Hum. Genet. 40: 99-112.
- Caruso G, Acreche N y Albeza MV. 1999 a. Polimorfismos hematológicos en Santa Rosa de los Pastos Grandes (Salta). Rev. Arg. de Antropología Biológica 2:227-242.
- Caruso G, Albeza MV, Acreche N y Broglio V. 1999 b. Grupos sanguíneos y Demografía en localidades puneñas de la Provincia de Salta. Rev. Arg. de Antropología Biológica 2(1):243-256.
- Craig-Holmes, A and Shaw, M. 1971. Polymorphism of Human Constitutive Heterochromatin. Science, 174: 702-704.
- De Grouchy, J y Turleau, C. 1978. Atlas de Enfermedades Cromosómicas. Editorial Marin, S.A. Barcelona.
- Dulout, FC; Grillo, A; Seoane, A; Maderna, C; Nilsson, R; Vahter, M; Darroudi, F and Natarajan, A. 1996. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes from native Andean women and children from Northwestern Argentina exposed to arsenic in drinking water. Mutation Research. Genetic Toxicology Testing, 370: 151-158.
- Dutrillaux, B. 1981. Los cromosomas de los primates. Mundo Científico. 10: 52-62 Ed. Fontalba. Barcelona.
- Frisancho, AR. 1996. Human Adaptation and Accommodation. Enlarged and revised edition of Human Adaptation. University of Michigan.

- Hamerton, J. 1971. Human Cytogenetics. Clinical Cytogenetics. Tomo I. General Cytogenetics. Academic Press. INC. New York
- Harrison, CH; Jack, E; Allen, T and Harris, R. 1985. Investigation of human chromosome polymorphisms by scanning electron microscopy. *Journal of Medical Genetics* 22: 16-23.
- Hultén, MA; Stacey, M and Armsrong, SJ.1995. Does junk DNA regulate gene expression in humans? *J. Clin. Pathol: Mol Pathol.* 48: M118- M123.
- Ibraimov, AI.1993. The origin of modern humans: A cytogenetic model. *Human Evolution.* 8 (2): 81-91.
- Ibraimov, AI. 1998 a. Biological Adaptation and Human Chromosomal QHeterochromatin Regions. Dual Congress. South Africa.
- Ibraimov, AI. 1998 b. Cultural Adaptations and Human Chromosomal q-Heterochromatin Regions. Dual Congress. South Africa.
- Ibraimov, AI. 1998 c. Proposed Sequence of the Origin of Homo sapiens sapiens and Chromosomal Q-Heterochromatin Regions. Dual Congress. South Africa.
- Ibraimov, AI; Mirrakhimov, M; Nazarenko, SA and Axenord, E. 1982. Human Chromosomal Polymorphism. II Chromosomal C Polymorphism in Mongolid Populations of Central Asia. *Human Genetics* 60: 8-9.
- Kosower, NS; Gerad, L; Goldstein, M; Parasol, N; Zisler, Y; Ragolsky, M; Rozsenewaing, S; Elkabetz, E; Abramovitch, Y; Lerer, B and Weizman, A. 1995. Constitutive Heterochromatin of Chromosome 1 and Duffy Blood Group Alleles in Schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics* 60:133-138.
- Nand, R; Rani, R and Ghosh, PK. 1981. Polymorphism of Constitutive Heterochromatin in two North Indian Populations: Punjabis and Rajputs. *Genetica* 54: 261-264.
- Patil, SR and HA Lubs. 1977. Classification of qh regions in human chromosome 1, 9, 16 by C – banding. *Hum. Genet.* 38: 35-38.
- Paulotti, O. 1949. Los Nativos de la Puna de Jujuy. *Rev. Inst. Antrop.* Vol 4: 5-83. UNJU.
- Retyk-Jeison, M. 1995. Estudio de Polimorfismos Cromosómicos en una Comunidad Toba de Quilmes (Rep. Argentina). Tesis Doctoral. UBA.
- Salzano, FM and SM Callegari-Jacques. 1988. South American Indians. A Case Study in Evolution. Clarendon Press. Oxford.
- Vahter, MG; Concha, G; Nermell, B; Nilsson, R; Dulout, F and Natarajan, A. 1995. An unique metabolism of inorganic arsenic in native Andean women. *European Journal of Pharmacology. Environmental Toxicology and Pharmacology Section,* 293: 455-462.
- Wilkinson, L; Hill, MA; Welma, JP and Birkenbevel, GK. 1992. SYSTAT for Windows. Statistics. Version 5. Edition Evanson, IL. SYSTAT, Inc.