UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL I
SECCION DE ANTROPOLOGIA

ESTRUCTURA GENETICA DE DOS COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS DE ECUADOR

TESIS DOCTORAL

REALIZADA POR:

CRISTINA MARTINEZ LABARGA

MADRID, SEPTIEMBRE, 1993.

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el Dipartimento di Biologia de la Universitá di Roma "Tor Vergata" y en la Sección de Antropología, Departamento de Biología Animal I, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la dirección del Profesor Gian Franco De Stefano y de la Profesora María Soledad Mesa Santurino.

V°B°
Fdo. G.F. De Stefano
Profesor Ordinario
Univ. "Tor Vergata" (Roma)

V°B°
Fdo. M.S. Mesa Santurino
Profesora Titular
Universidad Complutense (Madrid)

LOS MULATOS DE ESMERALDAS (Adrián Sánchez Galque, Quito. Siglo XVI)

(Con autorización para su reproducción del Museo de América de Madrid)

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han colaborado para que esta Tesis Doctoral llegue a su fín, sobre todo cuando uno está "lejos de casa". No quisiera olvidarme de nadie, pero a todos los que habeís estado próximos a mí, **MUCHAS GRACIAS.**

- A todos los que formaís parte del Laboratorio di Antropologia, del Dipartimento di Biologia dell'Universitá di Roma "Tor Vergata", -Olga, Marco, Giussepina, Maria, Enrico, Loretta....- porque a lo largo de estos tres años, me habeís dado hospitalidad, apoyo y todo tipo de ayuda en cualquier momento.

Especialmente, a Olga Rickards, ¡tu sabes todo lo que has trabajado con esta Tesis! Me has enseñado las técnicas, me has orientado, me has ayudado en la interpretación de los resultados. Además, has sido una amiga en todo momento.

- A F.M. Salzano de Brasil, que me ha cedido desinteresadamente el programa estadístico MISTURA para llevar a cabo el cálculo del mestizaje, y por sus consejos a la hora de utilizar e interpretar dichos resultados.

- A Jose Angel Peña García, de la Universidad del País Vasco, que ha llevado a cabo toda la elaboración estadística e informática de los matrices de migración, y por su ayuda en la interpretación de los resultados biodemográficos, que han sido de gran interés para el conocimiento de las dos comunidades afro-americanas.

- A J. Alcina-Franch, que cuando empecé a estudiar estas poblaciones me dió información histórica de cuando él había estudiado estas zonas de Ecuador y documentación bibliográfica.

- A G. Biondi y a V. Fuster, que al inicio del estudio, me orientaron sobre qué hacer a partir de los datos de biodemografía.

- Al Departamento de Investigaciones Clínicas, Hospital Gozandes, de Quito (Ecuador), dirigido por el Dr. Ronald Guderian, que han dado todo tipo de ayuda logística para que se llevara a cabo la toma de datos y recogida de las muestras en el campo, con la colaboración del Dr. Angel Guevara y de la Lic. Cora de Vieira.

- Al Obispo de la Provincia de Esmeraldas, Mons. E. Bartolucci, que me ha aportado documentación muy valiosa e imprescindible para llevar a cabo el análisis de las dos comunidades, como han sido los censos de población, mapas y referencias históricas.

- A la Embajada de Ecuador en Roma, por la colaboración que me han prestado en la recogida de documentación.

- Al Museo de América de Madrid, por cederme y permitirme reproducir el primer documento gráfico que existe de las comunidades negras de Esmeraldas.

- A la Caja de Madrid, por el pequeño préstamo que me concedió, que me permitió vivir algún mes en Roma.

- A todos los compañeros de la Sección se Antropología, de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid, a Lola, Angeles, Gonzalo, Imma, Pepa, Jesús, M. Dolores, Vicky, ... porque habeís estado cada vez que he venido, aunque fuera poco tiempo.

- A los **directores:**

a G.F. De Stefano, que me ha dado hospitalidad en su Laboratorio y me ha permitido estudiar estas comunidades afro-americanas en las que tenía tanto interés, y de las cuales me trajo las muestras y datos biodemográficos, al mismo tiempo que me ha orientado y aportado valiosas informaciones en la interpretación de los resultados. Asimismo me ha cedido las fotografías del Ecuador.

a M. S. Mesa, que en espacios muy breves de tiempo, debido a las idas y venidas, ha tenido que orientarme y dirigir este trabajo, sacando tiempo de los días festivos y sacrificando ratos de estar con su familia. Gracias a tí ha quedado legible y más "castellanizada".

- A todos mis amigos:

Los de "allí", que me habeís acompañado, soportado y aguantado en los buenos y malos momentos, a Silvio, Gian Franco, Paolo, María, Rocco...

Los de "aquí", que aunque ultimamente nos vemos poco, habeís tenido mucha confianza en mí, a Juanjo, Beatriz, Carlos, Amelia, Isabel...

Todos los que habeís estado interesados en las clases de español, que me han permitido subsistir en Roma, tanto tiempo, sin financiación económica.

A Piero, simplemente, porque has estado.

- A mi familia, a papá y mamá, porque ¡Todo llega! ¡Lo he conseguido! Ha sido mucho tiempo fuera de casa, vueltas a casa con mucho trabajo, no paraba, pero por fín, ¡Esto lo he terminado! Gracias por la confianza que habeís tenido en mí, y por todo tipo de ayudas. A tí, Juanma, porque hasta el último momento has estado apoyándome y pendiente de si había acabado.

A TODOS MUCHAS GRACIAS,

y a vosotros, los componentes de las comunidades afro-americanas de Ecuador, gracias, por haberos dejado estudiar.

INDICE

A. INTRODUCCION

A.1. El análisis de la estructura genética de las poblaciones humanas 1

A.2. Interés del estudio y objetivos 7

B. POBLACION ANALIZADA

B.1. Historia 11

B.1.1. Historia de las comunidades afro-americanas de Ecuador 12

B.1.2. Origen africano de las comunidades afro-americanas de Ecuador 24

B.1.3. Origen europeo de las comunidades afro-americanas de Ecuador 29

B.2. Aspectos geográficos, sociales y demográficos

B.2.1. Localización geográfica 30

B.2.2. Provincia de Esmeraldas 33

B.2.3. Aspectos sociales y demográficos 42

C. MARCADORES ESTUDIADOS

C.1. Polimorfismos proteicos 47

C.1.1. ACP1 53

C.1.2. ADA 65

C.1.3. AK1 75

C.1.4. CA2 83

C.1.5. ESD 91

C.1.6. GLO1 101

C.1.7. G6PD 107

C.1.8. PGD 123

C.1.9. PGM1 Y PGM2 131

C.1.10. Hemoglobina 149

C.2. Polimorfismos del DNA 163

C.2.1. DNA mitocondrial 169

C.2.1.1. Región V 171

D. MATERIAL Y METODOS

D.1. La muestra 175

D.2. Análisis de laboratorio

D.2.1. Preparación de las muestras sanguíneas 179

D.2.2. Métodos electroforéticos 181

D.2.3. Métodos de isoelectroenfoque 194

D.2.4. Extracción del DNA 197

D.2.5. Amplificación del DNA 200

D.3. Métodos estadísticos

D.3.1. Cálculo de frecuencias 203

D.3.2. Equilibrio de Hardy-Weimberg 205

D.3.3. χ^2 de heterogeneidad 206

D.3.4. Cálculo de F_{st} 206

D.3.5. Análisis de correspondencias 208

D.3.6. Análisis de distancias genéticas 211

D.3.7. Estima del mestizaje 218

D.4. Análisis biodemográfico 221

E. RESULTADOS Y DISCUSION

E.1. Marcadores proteicos

E.1.1. Frecuencias fenotípicas y génicas 225

E.1.2. Comparación entre las dos comunidades analizadas 233

E.1.3. Comparación con las poblaciones parentales y otras comunidades afro-americanas 235

E.1.3.1. Poblaciones comparadas

E.1.3.1.1. Población parental caucasoide 235

E.1.3.1.2. Población parental negroide 239

E.1.3.1.3. Componente indígena 242

E.1.3.1.4. Comunidades afro-americanas 242

E.1.3.2. Análisis de frecuencias 269

E.1.3.3. Cálculo del F_{st} 275

E.1.3.4. Análisis multivariados:
Análisis de correspondencias y
Análisis de distancias genéticas

E.1.3.4.1. 13 poblaciones y 10 sistemas
(GLO1, G6PD, AK1, ESD, PGD, ACP1, PGM1, ABO, RH, HBß) 278

E.1.3.4.2. 14 poblaciones y 8 sistemas
(GLO1, AK1, ESD, PGD, ACP1, PGM1, ABO, RH) 287

E.1.3.4.3. 13 poblaciones y 8 sistemas
(AK1, ESD, PGD, ACP1, PGM1-IEF, ABO, RH, HBß) 294
E.1.3.5. Estima del mestizaje 303
E.1.3.5.1. Contribución de las poblaciones parentales en las comunidades analizadas 303
E.1.3.5.2. Comparación con otras comunidades afro-afroamericanas 305
E.2. DNA *mitocondrial: Delección Region V* 309
E.3. Análisis biodemográfico 313
E.3.1. Comunidad de Rio Cayapas 313
E.3.2. Comunidad de Viche 321
E.3.3. Comparación entre las dos comunidades analizadas 328

F. RESUMEN Y CONCLUSIONES 331

G. BIBLIOGRAFIA 337

A. INTRODUCCION

A.1. EL ANALISIS DE LA ESTRUCTURA GENETICA DE LAS POBLACIONES HUMANAS

Cada hombre es un individuo distinto, una realidad única e irrepetible, fruto de las complejas interacciones entre su patrimonio genético y el ambiente físico en el que vive.

La variabilidad biológica y, en particular, la genética son las bases de la diversidad humana, y son la base de una parte importante de la Antropología.

La Antropología Molecular usa los llamados marcadores genéticos, con una determinación genética simple (unigénica o de pocos genes y de penetrancia completa). Generalmente se usan caracteres hemáticos como son los grupos sanguíneos, los antígenos leucocitarios y las proteínas enzimáticas, porque son fáciles de extraer (sangre) y de determinación simple según las técnicas de aglutinación para los grupos sanguíneos y los marcadores inmunológicos del suero, la microlinfocitoxicidad para los antígenos leucocitarios (HLA) y la electroforesis e isoelectroenfoque para las proteinas.

El primer marcador genético estudiado en el hombre fué el sistema de grupo sanguineo ABO. En 1900, Landsteiner reveló la variabilidad existente entre los individuos de una misma población (polimorfismo). Posteriormente, Bernstein demostró la base hereditaria de este sistema (polimorfismo genético) y Hirszfeld en 1918 demostró que las distintas poblaciones humanas se diferenciaban entre sí en las frecuencias génicas de este sistema (Roberts, 1986). Hasta la segunda mitad de los años 50, solamente fueron descubiertos sistemas de antígenos eritrocitarios

como el sistema MN (en 1927), P (1927), RH (1940-45), Duffy (1950), Kell (1946), etc... En 1955, Smithies inventó el método electroforético en gel de almidón para separar proteínas, y se descubrió el primer polimorfismo de proteinas séricas que fué la haptoglobina. Posteriormente, por métodos de coloración específicas se han identificado numerosos marcadores enzimáticos. En los últimos años, nuevas técnicas moleculares han permitido identificar numerosos polimorfismos a nivel del DNA (Roychoudhury y Nei, 1988).

La evolución biológica consiste en los cambios que se producen en las constituciones genéticas de los organismos. Cada individuo experimenta a través de su vida multiples cambios en la morfología, fisiología, comportamiento y otros aspectos, pero estos cambios carecen de permanencia, desaperecen con el individuo. Los cambios que tienen lugar en los materiales hereditarios, pueden pasar de un individuo a sus descendientes y por consiguiente, son acumulativos a lo largo de las generaciones.

Existen una serie de factores microevolutivos que pueden alterar las frecuencias génicas en las poblaciones, dentro de estos mecanismos la selección natural o las migraciones actúan en una dirección, mientras que la deriva génica es un fenómeno totalmente aleatorio y que afecta al conjunto de los genes.

Las migraciones y la deriva génica tienen efectos inversos, si la primera tiende a hacer más homogéneas las frecuencias génicas entre las poblaciones, en mayor medida cuanto mayor es el flujo génico, la segunda las diferencia y, en mayor grado, cuanto más largo es el periodo de aislamiento. Asimismo, el efecto de fundadores, que es un fenómeno consecuencia del azar, provoca diferencias en

la población debido al reducido número de individuos que dan origen a una nueva comunidad.

Las emigraciónes casuales y las otras formas de deriva génica, son fuerzas evolutivas que tienden a influir de la misma manera sobre la varianza estandarizada de las frecuencias de todos los genes, mientras que la selección actúa de forma específica sobre cada uno de ellos. Por este motivo los datos sobre las frecuencias génicas no sujetos a selección pueden ser usados para describir las relaciones genéticas entre las poblaciones y para describir su historia microevolutiva.

La genética contribuye a un mejor conocimiento de la historia, y el interés de una parte de la Antropología es relacionar datos genéticos con la historia, geografía, lengua y cultura. Ejemplos de este tipo de análisis son los que tratan de la expansión démica efectuados por el equipo de Cavalli-Sforza, y que serán objeto de un libro en vías de publicación titulado: "History and geography of human genes", en el cual de forma sintética se tratan de relacionar lenguas y genes. Por ejemplo, han demostrado en las poblaciones europeas y medio-orientales la presencia de un gradiente longitudinal de frecuencias génicas relativas a algunos marcadores genéticos. Estos gradientes se han explicado como el resultado del flujo migratorio ligado a la difusión de las primeras prácticas agrícolas y de la domesticación, con un progresivo movimiento en dirección sur-este-norte-oeste de poblaciones de agricultores y de una fusión con las poblaciones pre-existentes (Cavalli-Sforza, 1992; Cavalli-Sforza y Piazza, 1993; Cavalli-Sforza *et al.,* 1993). Aplicaciones de estos mapas también han sido llevados a cabo en la Península Ibérica, poniendo en relevancia, la singularidad genética de los vascos (Bertranpetit y Cavalli-Sforza, 1992; Calafell y Bertranpetit, 1993a; 1993b).

Estos mapas genéticos, resultado de las migraciones y del flujo génico, han sido complementados al estudiar las barreras geográficas y linguísticas en relación con la distribución de las frecuencias génicas (Barbujani, 1991; Barbujani y Pilastro, 1993; Barbujani y Sokal, 1990).

A estos estudios del conjunto de la historia del hombre, hay que añadir la gran cantidad de análisis que se han llevado a cabo para distintos grupos, en áreas geográficas limitadas con la finalidad de analizar la microheterogeneidad y aislamiento de determinados grupos de población, como es el caso de los grupos nativos americanos (Barrantes *et al.,* 1990; Black *et al.,* 1988; Greenberg *et al.,* 1986; Neel, 1991; Rickards *et al.,* 1993; Salzano y Callegari-Jacques, 1988), en Sicilia (Rickards *et al.,* 1992), o grupos aislados de la Península Ibérica (Aluja *et al.,* 1988; Calderón e Ibañez, 1987; Carracedo *et al.,* 1987; Mesa, 1973; Mesa *et al.,* 1992). Asimismo, se ha podido analizar el flujo génico de épocas recientes, como son los grupos de población gitana que han venido desde el oriente hasta occidente (Mesa y Bernasovsky, 1989), o bien las comunidades de población negra que se han establecido en América, como consecuencia de la esclavitud (Battistuzzi *et al.,* 1986; Biondi *et al.,* 1988; Crawford, 1986; Salzano, 1987).

Estos estudios se han visto favorecidos por la información que aportan algunos marcadores, que se encuentran sólo en determinadas áreas del mundo, y que permiten una identificación rápida de los movimientos migratorios, e incluso, de la acción de la selección natural, como es el caso de los alelos HBß*S y HBß*C de la hemoglobina, variantes de la G6PD, alelos ACP1*C y ACP1*R, o incluso, en los últimos años y con nuevas metodologías moleculares, la presencia de la delección de nueve pares de bases en la región V del DNA mitocondrial.

Por último, no podemos olvidar la valiosa información que aportan los estudios biodemográficos, que han permitido corroborar en muchos casos, la información puesta a disposición con los marcadores genéticos (Calderón,1983; Fuster, 1983; 1987; Fuster *et al.,* 1993; Jorde, 1980; Mielke *et al.,* 1976; Morton, 1973; Peña-García, 1988)

A.2. INTERES DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS:

Como se ha puesto de manifiesto en el capítulo precedente, el análisis de la estructura genética de las poblaciones humanas constituye una rama muy importante de la Antropología, ya que nos permite, incluso, reconstruir la historia evolutiva de estas poblaciones, utilizándola junto con la información suministrada por disciplinas como son la historia, lingüistica o antropología cultural. El papel de la Antropología Molecular, en este tipo de estudios, ha sido cada vez de mayor relevancia debido al desarrollo de nuevas técnicas de análisis a nivel molecular, así como al mayor y más complejo tratamiento estadístico de los datos.

Por lo tanto para estudiar las relaciones entre las poblaciones humanas actuales y con el fín de reconstruir nuestra historia evolutiva reciente, resulta muy importante obtener información de aquellas poblaciones para las cuales no existen datos de marcadores genéticos y, al mismo tiempo, intentar aportar pruebas que corroboren o completen aspectos históricos que han contribuido a determinar el patrimonio genético de las poblaciones.

En este sentido, el estudio de la estructura genética de las **comunidades afro-americanas** representa una óptima oportunidad para valorar la contribución de fenómenos evolutivos, como es el desplazamiento de grupos y la colonización de regiones inhabitadas, que han jugado seguramente, un papel de extrema importancia en la historia evolutiva de las poblaciones humanas. De hecho, para estas comunidades se dispone de información sobre su origen concreto, su historia

particular, y del aporte, en distinto grado, de diferentes grupos humanos que han ocasionado un mayor o menor grado de mestizaje. Por lo tanto, el análisis conjunto de datos históricos, demográficos y genéticos pueden permitir reconstruir los patrones que han ocasionado la actual población y dar una estima de las contribuciones relativas de las varias poblaciones parentales que han originado su actual "pool" génico.

En concreto, **Ecuador** es un país muy interesante para este tipo de estudio, ya que como se indicará posteriormente con más amplitud, en una extensión relativamente pequeña (aproximadamente 270.000 km^2) presenta zonas geográficas muy distintas, con una serie de climas característicos y representantes de grupos humanos diferentes que son principalmente: la población indígena, individuos de origen caucasoide (consecuencia de la colonización), comunidades negras (resultado de la trata de esclavos procedentes de Africa), y todo un amplio abanico de grupos mixtos, consecuencia del mestizaje en distintos grados entre ellos.

Dada la escasez de información genética en estos grupos humanos de Ecuador (Matson *et al.,* 1966; Jara *et al.,* 1989; Guevara *et al.,* 1991), el equipo de Antropologia del Dipartimento di Biologia de la Universitá "Tor Vergata" de Roma ha planteado un estudio global de distintas poblaciones en este país. Dicho estudio multidisciplinar, en colaboración con otros laboratorios europeos, de Estados Unidos y ecuatorianos, cuenta con el estudio de los grupos sanguineos, marcadores enzimáticos y séricos, marcadores del DNA mitocondrial, análisis a nivel del DNA de los genes de clase I y II del sistema HLA, estudio de polimorfismos de longitud de fragmentos por enzimas de restricción (RFLP) del gen

COL1A2, estudio de aspectos biodemográficos y epidemiológicos... Dicho grupo de investigación ya había estudiado, previamente, las comunidades afro-americanas de Nicaragua (De Stefano, 1970-71; De Stefano y Jenkins, 1976; Battistuzzi *et al.,* 1986; Biondi *et al.,* 1988).

Dentro del proyecto de Ecuador, dirigido por el Prof. G.F. De Stefano, se incluye esta Tesis Doctoral que trata del análisis de la estructura genética de las comunidades afro-americanas de Rio Cayapas y de Viche (Ecuador) y para la cual se plantean los siguientes **OBJETIVOS**:

1) Caracterizar geneticamente a las dos comunidades afro-americanas de Ecuador, mediante el análisis de los marcadores proteicos ACP1, ADA, AK1, CA2, ESD, GLO1, G6PD, PGD, PGM1, PGM1-IEF, PGM1-Tr/Ts, PGM2 y HBß.

2) Establecer el grado de heterogeneidad entre las dos comunidades afro-*esmeraldeñas de Ecuador*.

3) Establecer relaciones genéticas de ambas comunidades, con el conjunto de las comunidades afro-americanas y con las parentales africana, española e indígena de indios Cayapas.

4) Cuantificar el grado de mestizaje a partir de los grupos parentales africano, español e indígena.

5) Utilizar un marcador del DNA mitocondrial característico de poblaciones indígenas, para establecer su eventual presencia o ausencia en el "pool" génico de las comunidades afro-americanas de Ecuador, para valorar la contribución indígena materna.

6) El estudio del grado de aislamiento a partir de las matrices de migración y de las frecuencias de los apellidos, teniendo en cuenta, la dificultad que plantea

la toma de datos biodemográficos en este tipo de poblaciones.

7) Relacionar los datos históricos, sociales y culturales con los aportados por los datos genéticos y biodemográficos.

En este estudio se han tomado en consideración los términos *"negros", "blancos", "indios e indígenas"* por tratarse de vocablos muy extendidos, referidos a grupos humanos americanos, más o menos mezclados, con una serie de características concretas, como sinónimos de los grupos que presentan rasgos negroides, caucasoides o nativos americanos, respectivamente.

B. POBLACION ANALIZADA

B.1. HISTORIA:

América Latina es una amalgama de distintos grupos humanos, con una distribución no uniforme. Además, cuando se analizan los diferentes paises encontramos que, mientras unos tienen una población basicamente homogénea, otros son muy heterogéneos. En esta variedad incide, fundamentalmente, no sólo la existencia conjunta de una población indígena y de otra de origen europea, sino también, la de una población africana (Benítez et Garcés, 1989), así como una mezcla de todas las componentes originales en distintos grados, que aparacen en la tabla B.1.

Tabla B.1.- *Distintos tipos de mestizaje, en distintos grados, entre los diferentes grupos parentales y nomenclatura (tomado de Rosenblat, 1954).*

MESTIZOS, CUATRALBO, CASTIZO: INDIO x BLANCO
MULATOS, TRIGUEÑOS, MORISCO: NEGRO x BLANCO
ZAMBO, LOBO, ZAMBAIGO: INDIO x NEGRO
LADINO: TRIHIBRIDO

El término de NEGRO es localmente despectivo y se usa a menudo, en su lugar, el de MORENO o CIMARRON.

B.1.1. HISTORIA DE LAS COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS DE ECUADOR:

Respecto al origen de estas comunidades, objeto de este estudio, existen diferentes fuentes de información: algunas basadas en datos arqueológicos (Alcina Franch, 1979), otras de tradición oral (Cabello Balboa, 1945), y, las más recientes, basadas en documentos escritos o en el análisis de apellidos (Savoia, 1990).

EPOCA PRECOLOMBINA:

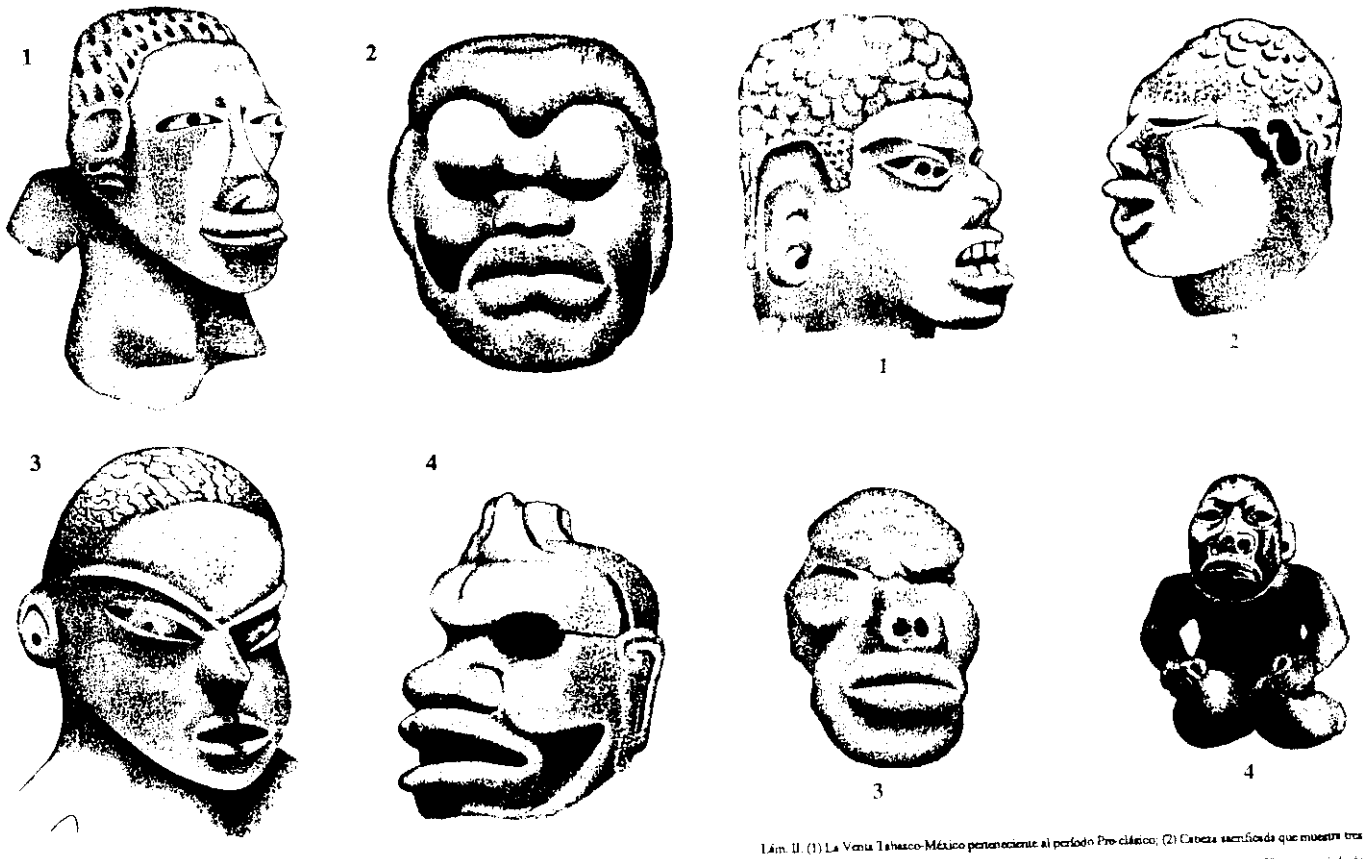
"Hace por lo menos 4000 años, mucho antes de que existiera Colón, africanos de la costa atlántica en modestas falúas se deslizaron por el mar y llegaron al Brasil y de aquí a otros paises, de ahora, entre ellos al nuestro, -Ecuador-; de seguro, no fué, una sino varias migraciones: así pues, el negro y el indio son los pilares étnicos de América" (Jurado, 1988). Son varios los estudiosos que aportan observaciones y evidencias, sobre todo, de tipo arqueológico, que fundamentan la presencia de negroides en la prehistoria, no sólo sudamericana, sino ecuatoriana. Así, Porras Garcés (1988) ha recopilado una serie de pruebas, para apoyar esta hipótesis. Por ejemplo, las cabezas monolíticas, de hasta 35 toneladas de peso, producto de la cultura Olmeca (1.100 a.C.), que hay en San Lorenzo (México), según el autor, son representaciones de individuos negros. También, Porras Garcés (1988) indica que, presentan rasgos negroides los cráneos encontrados en Tlalilco, Cerro de Mesas y Monte Albán (lugares preclásicos de México). Incluso, señala que la presencia del negro, en Costa Rica y Panamá, es confirmada por el Autor de "Las Décadas", Pedro Mártir de Anghiera, que era

consejero de los Reyes Católicos. Cuando relata la exploración de Blasco Nuñez de Balboa, dice: "*Ahí tropezaron con esclavos negros de una región dos días de Cariaca, habitada unicamente por negros feroces y extraordinariamente crueles... Entre indios y negros se esclavizan o matan mutuamente*".

Porras Garcés (1988) también aporta opiniones en el sentido de que los caracteres somáticos típicos de individuos negros, no se han mantenido a causa del reducido número de estos. De igual modo, señala que estudios realizados en una de las etnias ameríndias más antiguas y aisladas de México, "los lacandones", se han identificado "células enfermas", resistentes a la malaria, que generalmente se encuentran en los negros.

Por último, centrándonos en el área de Ecuador, los antropólogos Whitten y Friedemann (1974) consideran un origen antiguo de las comunidades negras en esta zona y, de igual manera, Porras Garcés (1988) examinando la abundante información arqueológica recogida por Alcina Franch (1979) y Sánchez Montañez (1981) en la zona de Esmeraldas, destaca que en las figuras y estatuillas publicadas por estos autores, se pueden observar claros rasgos negroides, en los restos de Tachina (100-300 a.C.) y de Tiaone (La Tolita, Tumaco, 500 a.C. a 500 d.C.).

En la Figura B.2. aparecen algunos de los restos de este periodo con aparentes rasgos negroides.



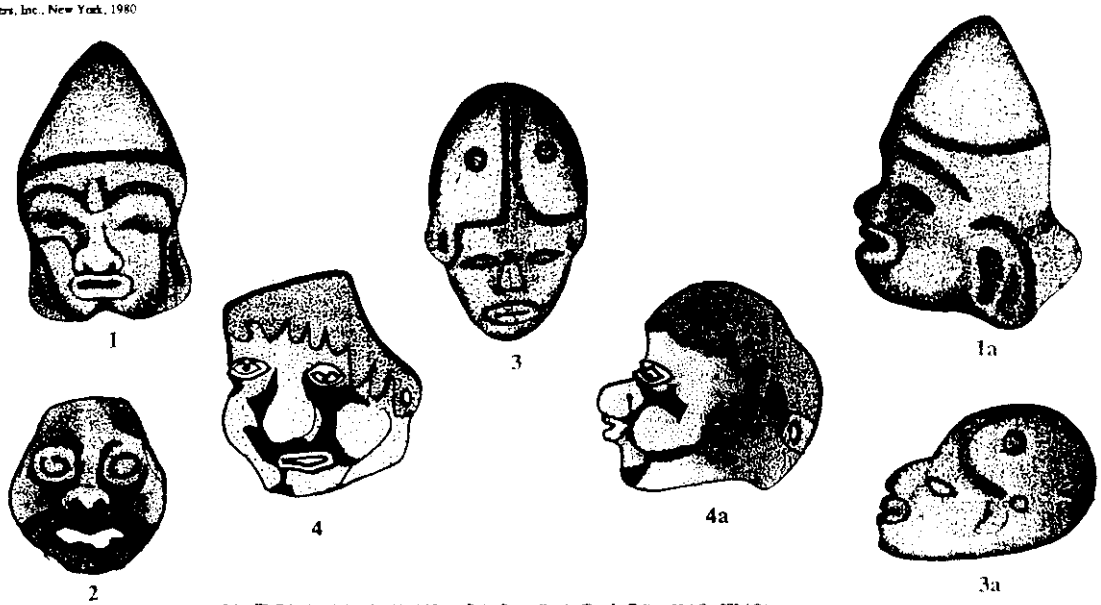
Lám. I. (1) Figurita Huasteca perteneciente al período Pre-clásico; (2) Monumento Olmeca de Tres Zapotes (México) (1.100 a.C.); (3) Cabeza de figurina de Tlatilco del período Pre-clásico medio; (4) Cabeza de figurina (piedra) de la cultura Totonaca del período Clásico.

Rfr. Fig. 1 y 3 (Von Wuthenau, Alexander, **The Art of Terracotta Pottery in Pre-Columbian Central and South America**, Crown Publishers, Inc., New York, 1969).

Fig. 2 y 4 (Von Wuthenau, Alexander, **Unexpected Faces in Ancient America**, Second ed., Crown Publishers, Inc., New York, 1980

Lám. II. (1) La Venta Tabasco-México perteneciente al período Pre-clásico; (2) Cabeza sacrificada que muestra tres heridas, Veracruz, período Clásico; (3) Morelos-México del período Preclasónico; (4) Figurina en jade de la cultura Olmeca, período tardío.

Rfr. Fig. 1-4 (Von Wuthenau, Alexander, **Unexpected Faces in Ancient America**, Second ed., Crown Publishers, Inc., New York, 1980)



Lám. III. Cabecitas de la colección del Padre Pedro Porras Garcés. (Fase La Tolita - 90 d.C. - 270 d.C.)

Fig. B.2.- *Figuras y monumentos del periodo pre-clásico de distintos orígenes donde se observan rasgos negroides (tomado de Porras Garcés, 1988).*

EPOCA COLOMBINA:

R. Savoia (1988a), que se ha dedicado a reconstruir la historia de los afroamericanos de Esmeraldas, presenta como primera comunidad, la del relato de Miguel Cabello (1577-1582) que se relaciona a continuación:

"En el año del Señor de 1553, por el mes de octubre, partió del puerto de Panamá un barco, una parte del cual alguna mercadería y negros que en el venían, era y pertenecía a un Alonso de Illescas, vecino de la ciudad de Sevilla, el cual barco como hallase por aproa los sures [...] se entretuvo muchos días sin poder seguir su viaje, y pasados treinta días de su navegación, pudo hallarse doblado el cabo de San Francisco, en una ensenada que se hace en aquella parte que llamamos Portete; tomaron tierra en aquel lugar los marineros y saltando a ella para descansar, de una tan prolija navegación, sacaron consigo a tierra a diez y siete negros y seis negras, que en el barco traían, para que les ayudasen a buscar algo que comer, porque ya no tenían con qué se poder sustentar, dejando el barco sobre un cable. Mientras ellos en tierra, se levantó un viento y marea que le hizo venir a dar en los arrecifes de aquellas costas, los que, en el ya quebrado barco habían venido, pusieron su cuidado en escapar si pudiesen, algo de lo mucho que traían [...] trataron de hacerse sus camino por tierra, y queriendolo poner en efecto procuraron juntar los negros, los cuales y las negras se habían metido en el monte adentro, sin propóstio ninguno de volver a servidumbre"[1]

---

[1]Miguel Cabello de Balboa, 1945. Verdadera descripción y relación de la provincia y tierra de las Esmeraldas. En: *Obras*. Vol. 1: 1-76. Quito. Citado en Alcina Franch (1976).

Alcina Franch y Peña (1980) describen que la región donde desembarcaron los negros de Illescas, era una zona fronteriza entre dos grupos tribales importantes: los "Niguas" y los "Campaces". Los primeros ocupaban parte de la cuenca del rio Esmeraldas, desde la región de los "Yumbos" hasta el mar y, en la costa, desde la desembocadura del Esmeraldas hasta el sur del cabo San Francisco y zona del Portete, donde se señala el desembarco de los negros (Figura B.3.). Los "Campaces", habitaban en la serranía de la región de la costa, desde el cabo San Francisco hasta la Bahía de Caraquez. Los indios "Campaces" parecían ser muy agresivos y belicosos, mientras que los "Niguas", presentaban una imagen mucho más amistosa.

Este grupo de negros que desembarcaron en Portete buscan refugio y alimentos, y llegan a una localidad llamada "Pidi", habitada por la tribu de los Niguas. *"Los bárbaros della, espantados de ver una escuadra de tan nueva gente, huyeron con la más nueva priesa que les fue posible y desampararon sus ranchos y aun sus hijos y mujeres"*[1]. Poco después regresarían y pactarían con los recién llegados, una vez que comprobaron que no podían vencerles y expulsarles del lugar.

En esa época se habla de un caudillo de los negros que es Antón, que organiza una guerra contra los "Campaces" que se hallaban más al interior. *"Los belicosos "Campaces" les dieron tal priesa que les mataron seis negros y algunos indios amigos"*. Así fué como se sembró el terror en toda la comarca. Antón, considerado el primer caudillo, muere más tarde y es sustituido por el líder negro Alonso Illescas, el cual utiliza el sistema del terror usado por Antón para extender su fama por todo el territorio.

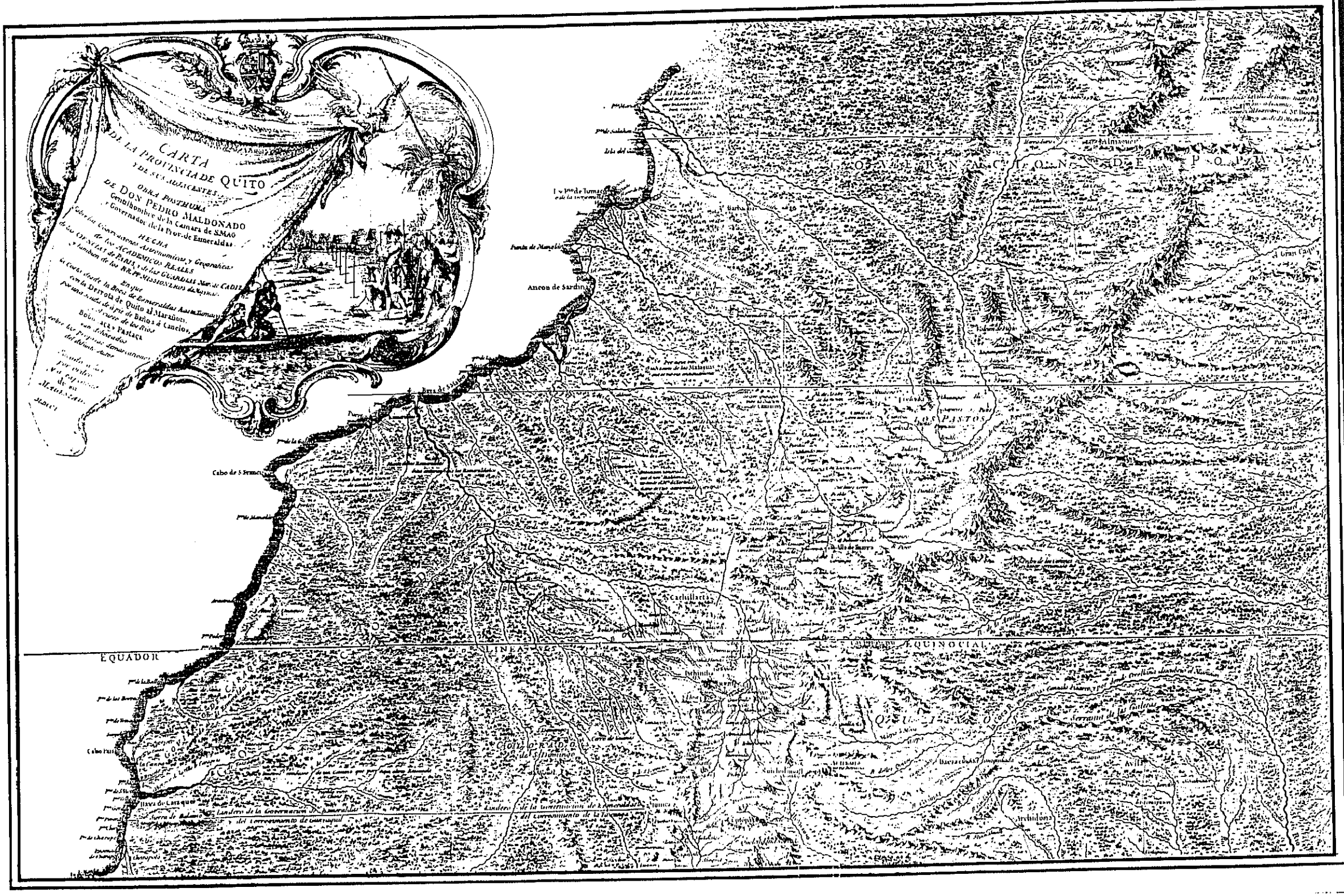


Fig. B.3.- *Mapa de la Provincia de Quito publicado en 1750 (tomado de Savoia, 1992).*

Así escribía el presbítero Miguel Cabello de Balboa, en 1582, basándose en los datos que recogió directa y personalmente, ya que el 15 de Septiembre de 1577, desembarcó en Atacames e hizo buena amistad con el negro Alonso Illescas, quién le relata, en forma de tradición oral, toda la historia, la cual él plasma en sus escritos. "De aquí que las tradiciones o transmisiones orales son fuentes históricas cuyo carácter propio está determinado por la forma que revisten: son orales o no escritas, en su origen, y tienen la particularidad de que se cimientan en la memoria de los hombres de generación en generación. La tradición histórica es fuente histórica y merece cierto grado de credibilidad" (Coba Andrade, 1980). Este hecho histórico de tradición oral también es referido en: Alcina Franch (1976), Alcina Franch y Peña (1980), Cobo y Fresco (1980), Estupiñán Tello (1983), González Suarez (1970), historiadores; Whitten y Friedemann (1974), antropólogos; Bartolucci (1983), Vargas (1981) y Coba Andrade (1980), cronistas; entre otros, todos ellos aceptan la existencia de esa primera comunidad de negros en Esmeraldas, no obstante, hay que tener presente que se basa en un relato único, lo cual obliga a que se tenga que considerar con una cierta cautela.

Teniendo en consideración esta fuente, a partir de este momento, los negros recién llegados empiezan a crear una comunidad, y lo hacen mezclándose con las indias, así, al menos, precisan varias fuentes. "El licenciado Salazar de Villasante dice que los primeros negros han hecho un pueblo y tomado indias y casándose con ellas y multiplican". Por otra parte, Cabello Balboa escribe que Alonso de Illescas: *"le dieron por mujer una india hermosa, hija de un principal"*[1] (Alcina Franch, 1976)

En una época posterior, y con datos históricos más fidedignos se narra que con la expedición de Alvarado, llegan negros que participan en los enfrentamientos militares de 1534, con Diego de Almagro (Whitten y Friedemann, 1974; Benítez y Garcés, 1989). Este grupo queda en Ecuador en calidad de "negros libres" y da lugar a que en el siglo XVI se produzca una expansión de la población negroide, tanto en el número como en las zonas en las que habita. En particular, los negros que se liberaron (antes de la abolición de la esclavitud) en las costas de Esmeraldas, dan lugar en la Provincia de Esmeraldas a "la República de los Zambos" (Whitten y Friedemann, 1974) y al referirse al "*zambo*" se le define como el hijo de un negro y una india, o de un indio y de una negra.

Esta población creció extraordinariamente, y "en 1600 se calculaba que había más de cincuenta *mulatos* y *zambaigos*, y en 1620 llegaban a ser un centenar (Alcina Franch, 1976).

Según Alcina Franch (1976) existe en 1657 un pueblo de *mulatos* denominado San Mateo, y que debe corresponder al actual Esmeraldas y, en 1678, en la recién fundada ciudad de Atacames, hay 20 *mulatos*.

Ya en épocas posteriores, diferentes historiadores relatan que, durante un periodo de 50 años, más de veinte expediciones, con soldados españoles e indios, llegaron sucesivamente a Esmeraldas, desde otras ciudades de Ecuador, como son Quito-Ibarra y desde Guayaquil-Portoviejo, para colonizarla, sometiendo a su población negra, pero nunca lo lograron, y siempre fueron rechazados (Bartolucci, 1983; Speiser, 1985).

Otro hecho esencial en la historia de la ocupación negra de Esmeraldas fué el hecho de que "en 1600, según Serrano Quiroz, existe un nuevo naufragio y

atrae a las costas de Esmeraldas otro grupo de gente de color, aumentando con ello la simiente que traería luego la población negra actual" (Coba Andrade, 1980).

De igual manera, cuenta Estupiñán Tello (1977), *"arribó a San Mateo un navío procedente de Nicaragua, conduciendo negros y entre ellos llega Alonso de Arrobe unido con una india nicaragüense y de esta unión nacieron dos hijos: Juan y Francisco. Surgen rivalidades entre los Arrobe y los Illescas. Alonso Sebastián de Illescas, más experimentado, ladino y lucho mató cruelmente a Alonso de Arrobe manteniendo su liderazgo".*

A partir del siglo XVIII, una nueva vía de entrada de negros aparece en la historia de Esmeraldas. Procedentes de Colombia, llegaron numerosos cimarrones, esclavos en su país y que lograban fugarse para defender su libertad contra la tiranía. Seguramente, en Esmeraldas encontraban un paraiso para la libertad, al igual que los esclavos que escapaban de las haciendas regentadas por jesuitas de la ecuatoriana provincia de Imbabura (limítrofe con Esmeraldas) (Pujol, 1970-71; Bartolocci, 1983; Speiser, 1985; Jurado Noboa, 1992).

También, desde Colombia, a finales del siglo XVIII, un grupo de esclavos negros entra en la provincia de Esmeraldas, para trabajar en las minas de Uimbi, Cachaví y Playa de Oro. Se trataba de esclavos que realizaban este mismo trabajo en las minas colombianas (Savoia, 1988b; Jurado Noboa, 1992).

Después de estos aportes desde Colombia, la población negra de Quito y Guayaquil, en 1781, era de, aproximadamente, 2000 individuos que constituyen un 0,06% de la población de Quito y el 0,6% de la de Guayaquil (Erickson *et al.*, 1966).

Los negros, incluso, eran utilizados en su calidad de esclavos en las guerras de independencia, en las cuales, algunas veces se les prometía la libertad, aunque esta promesa fué escasamente cumplida y tuvieron que esperar años hasta la abolición de la esclavitud que llegó a Ecuador en 1867 (Estupiñan Tello, 1983).

Según el Censo de la Gran Colombia de 1825, en el Departamento del Sur, actual Ecuador, había 6.804 esclavos (Coba Andrade, 1980). Por otra parte, en ese mismo año de 1825, Bolivar ordenó un censo de esclavos negros en el territorio nacional, según el cual en Esmeraldas sólo había 120 esclavos, que constituían un 1,7% del total de la población, el porcentaje más bajo del país (Estupiñan Tello, 1983).

En la última década del siglo pasado, se produce un aporte muy importante a la población negra de Ecuador, lo contituyeron los 4000 Jamaicanos llevados por el general Alfaro para la construcción del ferrocarril Quito-Guayaquil, que uniría la sierra con la costa. Una vez terminadas las obras, dado que no se aclimataban a la cordillera, se desplazaron a Esmeraldas, donde se establecieron (Diaz, 1978; Estupiñán Tello, 1983; Savoia, 1990).

EPOCA RECIENTE:

A comienzos del presente siglo se han dado sucesivas migraciones de y hacia Colombia, dependiendo en parte, de las fluctuaciones en el comercio de productos agrícolas: café, cacao y plátano, fundamentalmente. Además, existen entre 1850 y 1920, una serie de movimientos migratorios de poblaciones negroides concentradas en áreas mineras del suroeste de Colombia. Así, la población minera de la zona de Barbacoas (sur de Colombia) se desplaza hacia la región de Tumaco

(más hacia el sur), después entró en Ecuador, hasta Limones y los rios Santiago y Cayapas, expandiéndose hasta Esmeraldas y, posteriormente, hacia el interior (West, 1957) (Figura B.4.).

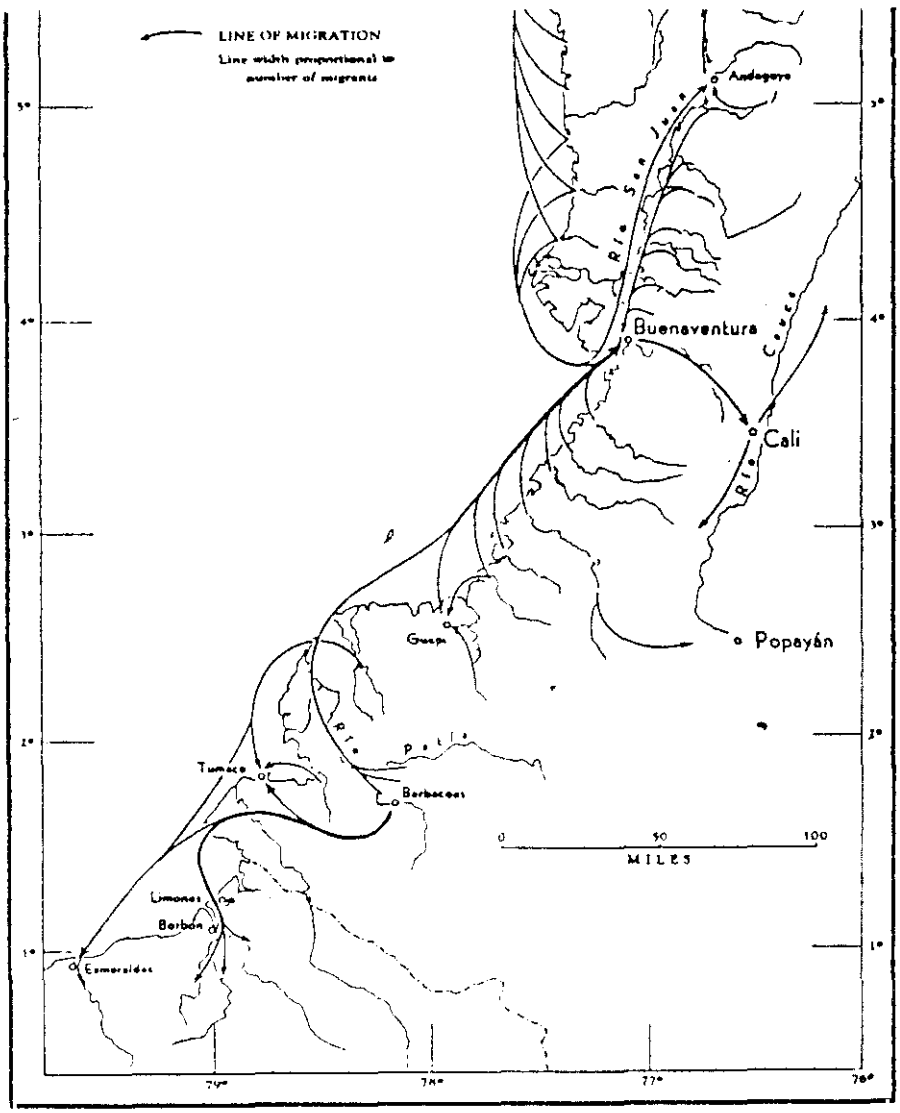


Fig. B.4.- *Migraciones que se han producido en este siglo en la costa húmeda del Pacífico, que incluye Colombia y la Provincia de Esmeraldas en Ecuador (tomado de West 1957).*

Los movimientos de población negra desde Colombia a Ecuador se han seguido produciendo en las últimas décadas, incrementándose la población negroide de la provincia de Esmeraldas.

Estos desplazamientos implican una estrecha relación entre el Sur de Colombia y el Norte de Ecuador, en su costa del Pacífico, más aún, en el norte de Esmeraldas nunca se ha aceptado la frontera con la región de Tumaco y, cuando en 1989 Tumaco amenazó con anexarse a Esmeraldas, no pareció "una idea absurda, como la plantearon algunos medios de comunicación, ya que siempre se han sentido como una gran familia" (Savoia, 1990).

Además, hay que añadir que, con la crisis de algunos productos tropicales (banana) y con el auge del petróleo, los negros migran del campo a la ciudad. La ciudad de Guayaquil se convierte en el nucleo más importante de población negra, aparte de Esmeraldas. También, existe un mayor flujo de migración negra hacia el oriente ecuatoriano, aunque está disminuyendo (Palenque, 1992).

Por otro lado, Esmeraldas ha recibido población procedente de las provincias de Manabi y Loja, impulsada por las sequías de comienzos de los años 70, además llegan colonos de las provincias de Carchi e Imbabura, por medio del ferrocarril o utilizando las nuevas carreteras que se están abriendo entre Ibarra, San Lorenzo o Quininde (Palenque, 1992).

Por tanto, a modo de resumen, cabe señalar que los numerosos grupos que allí se establecieron a lo largo del tiempo han podido tener distinta relevancia considerando, por un lado, su diferente lugar de procedencia y, por otro, que el número de personas que las componían debió ser muy variable. La permanencia de estos grupos en esta región se debe en gran medida a la capacidad de adaptación

de los negros al medio que ofrece la provincia de Esmeraldas. Probablemente, Alonso Illescas, Antón y los demás que desembarcaron en el Portete en 1553, habían sido capturados en Africa. Si se considera que el área del golfo de Guinea es su lugar de origen, hay que tener en cuenta que junto a Esmeraldas, se trata de zonas climaticamente semejantes, definidas como de bosque tropical lluvioso, con una vegetación y fauna relativamente similares. Por ello, se entiende, que dada la semejanza del cuadro ambiental, la adaptación del grupo negro en esa región sería muy alta (Alcina Franch, 1976). Como dice Estupiñan Tello (1983): "¡La vida le fué fácil en tan maravilloso paraiso!.. El negro tenía todo: las fértiles tierras estaban a su arbitrio. Le bastaba abrir un pequeño claro en la manigua para plantar su rancho y llamarse dueño..."

B.1.2. ORIGEN AFRICANO DE LAS COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS DE ECUADOR:

En los albores del siglo XVI, Fray Bartolomé de las Casas, lanzó su famosa proclama sobre la humanidad de los indígenas. Este fraile español arguyó que debían ser protegidos y, para ello, otros grupos de trabajo deberían reemplazarlos, así recomendó la importación masiva de negros africanos que llevarían a cabo las tareas animales que, hasta ese momento, recaían en los nativos de América (Bastide, 1969; Whitten y Friedemann, 1974).

Por este motivo, desde el siglo XVI al XVIII se translada un número muy importante de negros desde el continente africano hasta América. Las cifras dadas por los estudiosos es variable y oscilan entre: 15 y 20 millones de negros (Coba Andrade, 1980), a 9 millones y medio (Curtin 1975).

La población de esclavos negros que llegó a América procedía de diversos lugares, que ha sido posible identificar a partir de la documentación de la época. Se distinguen seis zonas de origen, con distinta importancia en el tiempo (Benitez y Garcés, 1989):

1) Norte de Africa, incluye Mauritania y Costa de Cabo Verde. Además, las Islas Canarias eran lugar de concentración de esclavos.

2) Guinea y el actual Senegal, de gran importancia en el siglo XVI, a los esclavos procedentes de estas zonas se les conoce genericamente como los de los rios de Guinea.

3) La región de Costa de Oro y de los rios de Sierra Leona, de donde provenían los esclavos a finales del siglo XVI.

4) Camerún y Congo, a finales del siglo XVI y comienzos del siglo XVII, los esclavos de cultura Bantú y Dahomeyana.

5) Rio Congo y región de Angola, la zona más importante desde mediados del siglo XVII en adelante.

6) Desde finales del siglo XVII comienza la llegada de esclavos desde la zona este de Africa, archipielago Malayo y de las Filipinas.

Si nos centramos en nuestra zona de estudio, Mörner (1966) documenta que, antes de iniciarse el tráfico negrero directamente desde Africa, algunos negros ya habían sido traidos por sus amos desde España, para que participaran en las luchas de la conquista. Efren Reyes (1967) escribe que las provincias sudamericanas del Pacífico no recibieron un número elevado de contingente negro, y estima que de los 138.000 esclavos calculados sólo le correspondieron unos 8.000 esclavos a la capitanía General de Venezuela y el Virreinato de Nueva

Granada, que incluía el actual Ecuador. De los mestizajes con otros grupos surgieron *mulatos, zambos y pardos libres*, de los que los paises vecinos contaban con un número importante, tal es el caso de Venezuela con 406.000 y Colombia con 140.000, mientras que en la Presidencia de Quito solamente se contabilizaron 42.000. Los 8.000 esclavos negros y los 42.000 *zambos* y *mulatos* en Ecuador, se localizaban en las plantaciones costeñas y en los valles de la altiplanicie como son Chota, Catamayo, así como en los campos mineros de Zaruma.

En Ecuador, la población negra llega, fundamentalmente, con la finalidad de reforzar la mano de obra indígena en las minas y en los lavaderos de oro, así como para la implantación de monocultivos en la zona tropical. Llegan principalmente a Guayaquil, puerto que sirve como centro de recogida de negros para proveer de mano de obra a las plantaciones de algodón y caña de azúcar. También, es importante Cartagena, en Colombia, donde iban los colonos desde Quito para comprarlos.

En Esmeraldas hay que destacar, que una parte de la población negra no fué propiamente esclava, sino que procede de los negros cimarrones, evadidos de Panamá o de las plantaciones de jesuitas del valle de Coangué (Chota y Salinas) (Estupiñan Tello, 1983).

Además, Ecuador no tiene un aporte directo de comercio negrero. Tan solo, entre las rutas menores negreras figura una que va desde Veracruz hacia el Altántico (Cuba y Antillas) y de allí por tierra hacia Campeche, para luego llegar a Honduras, Panamá, Guayaquil, Callao y Valparaiso (Peralta, 1979).

Erickson *et al.,* (1966) refieren que los esclavos, que vinieron directamente de Africa a Ecuador, eran del stock Bantú, si bien actualmente el porcentaje de

negros puros es muy pequeño. Whitten (1974) y Whitten y Friedemann (1974), al referirse a la provincia de Esmeraldas y sur de Colombia, dicen que el origen de los negros de esta zona está en Africa occidental, ya que se identifican como Angolas (Angola nor-central), Lucuimi o Yoruba (Nigeria), Mina (San Jorge de Mina, Costa de Oro), Chambas (Nigeria), Carabali (Costa de Calabar, Nigeria), Bambana (Alto Senegal en la Guinea Francesa), Güagui (Rio Niger en Nigeria), Mondongos (Congo), Mandinga (Sudán Francés) y Dahomeyanos. Jurado Noboa (1992) concreta que los esclavos de las minas de Barbacoas, los cuales migran posteriormente a Esmeraldas, son Mandingas del valle de Gambia, Congos de habla Bantú procedentes del rio Congo y los Angolas del suroeste de Africa. Merrer (1978) también sugiere el origen en Guinea, Costa de Marfil, Senegal, Congo, Nigeria y Angola. West (1957) y Pujol (1970-71) al referirse al litoral humedo pacífico opina que el origen ha sido la Costa de Guinea, Congo y algunos proceden de Sudán occidental y Angola (Figura B.5.).

En cualquier caso, la documentación escrita acerca de la procedencia en Africa de estas poblaciones negras es escasa y, posiblemente, en algunos casos sesgada porque muchos negros eran de contrabando, y por lo tanto, no eran registrados cuando llegaban a América. Además, la identificación de los esclavos se hacía según el puerto de embarque, pero no de acuerdo a su origen, y la composición de los barcos era, generalmente, heterogénea para evitar los motines y las sublevaciones (Gonzalez *et al.*, 1976).

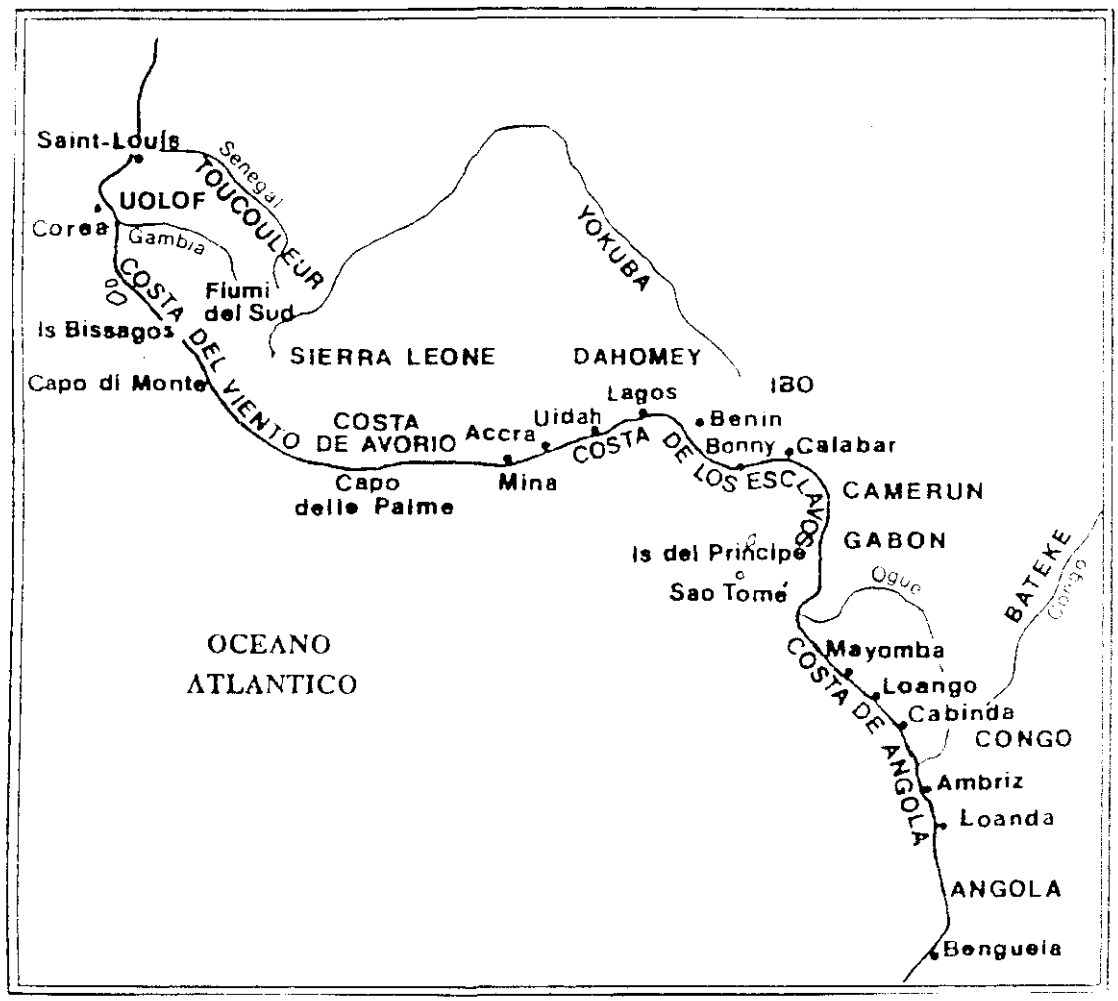


Fig. B.5.- *Regiones de la costa atlántica de Africa de donde procedía la población negra que llegó a Ecuador (tomado de Benitez y Garcés, 1989).*

B.1.3. ORIGEN EUROPEO DE LAS COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS DE ECUADOR:

Respecto al aporte de población caucasoide, a Perú, Ecuador y Bolivia, la migración de origen europeo fué poco significativa, respecto a otros paises, debido a la existencia de un gran número de indígenas y a la lejanía de rutas marítimas desde Europa. Existen datos de que a Ecuador, llegaron principalmente españoles, en un principio, extremeños y andaluces, y más tarde, navarros, castellanos y vascos (Benítez y Garcés, 1989).

Dada la ausencia de información más concreta. a titulo orientativo, en la tabla B.3. se puede observar el aporte de emigrantes españoles a América según las distintas regiones (Foster, 1960).

Tabla B.3.- *Número de emigrantes españoles que llegaron a América (tomado del Catálogo de Pasajeros a Indias (1509-1534 en Foster, 1960).*

REGION	*EMIGRANTES*	*PORCENTAJE*
Andalucía	2245	29,38
Castilla la Vieja	1476	19,32
Extremadura	1389	18,18
León	921	12,05
Castilla la Nueva	880	11,52
Asturias y Galicia	320	4,19
Vascongadas	216	2,83
Murcia	48	0,63
Aragón	46	0,60
Cataluña	38	0,50
Valencia	26	0,34
Navarra	23	0,30
Baleares	11	0,14
Canarias	2	0,03
TOTAL	7641	100,00

B.2. ASPECTOS GEOGRAFICOS, SOCIALES Y DEMOGRAFICOS

B.2.1. LOCALIZACION GEOGRAFICA: ECUADOR

Ecuador tiene una superficie de 269.178 Km^2, se encuentra situado en la costa occidental de América del Sur, entre los paralelos 1°27'23'' de latitud norte y 5°00'40'' de latitud sur, y entre los 80°59'43'' y 75°12'10'' de longitud occidental. Limita al norte con Colombia, al este y sur con Perú y al oeste con el océano Pacífico. También forman parte del territorio ecuatoriano las Islas Galápagos, situadas a 1000 Km de la costa. Esta dividido politicamente en 20 provincias (Figura B.6.).

Tanto el territorio continental como el insular está atravesado por la linea ecuatorial.

La Cordillera de los Andes, dividida en dos ramas, Oriental y Occidental, atraviesa el país de norte a sur, dando lugar a tres regiones naturales: la costa, la sierra y el oriente, con una amplia gama de climas por sus peculiares características geográficas.

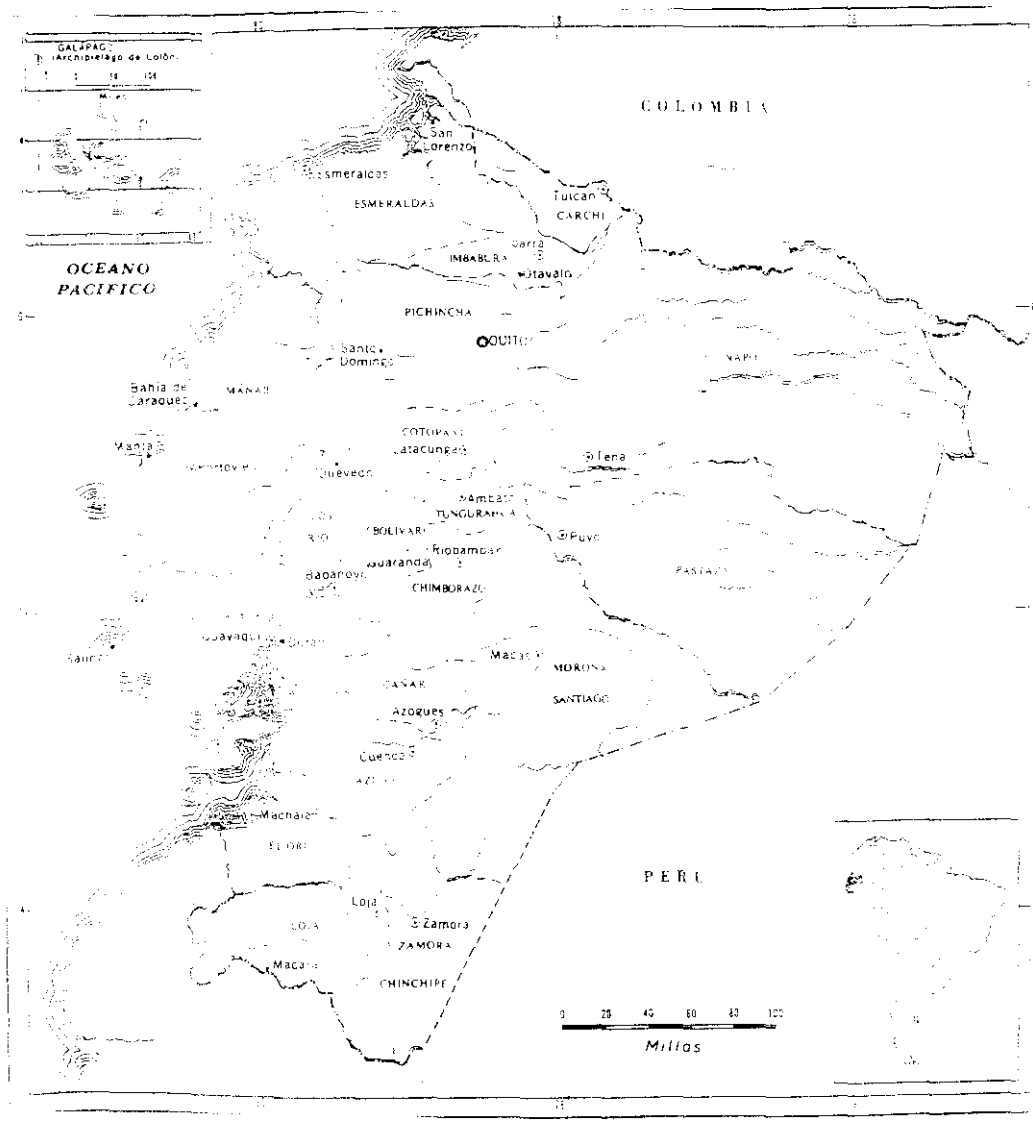


Fig. B.6.- *Mapa de Ecuador, con sus 20 provincias. (tomado de Erickson et al., 1966)*

La población de Ecuador según el Censo de Población de 1990 era de 10.782.000 habitantes, de los cuales alrededor del 50% corresponden a indios Quechua -Colorados, Cayapas, Cofanes, Awas, Jívaros o Shuaras, Saraguros, Otavaleños, Aucas-, cerca del 40% son mestizos, algo menos del 10% blancos descendientes de españoles y, con menor porcentaje, mulatos y negros (Invierta en el Ecuador, 1992; The New Encyclopaedia Britannica, 1991).

Shuaras, Saraguros, Otavaleños, Aucas-, cerca del 40% son mestizos, algo menos del 10% blancos descendientes de españoles y, con menor porcentaje, mulatos y negros (Invierta en el Ecuador, 1992; The New Encyclopaedia Britannica, 1991).

La densidad de población varía según las distintas regiones, desde 120 personas/Km^2 en las zonas de la Costa hasta 20 personas/Km^2 en algunas areas tropicales del norte de la Provincia de Esmeraldas. La población urbana asciende al 50% de la población total. La tasa de crecimiento anual de la población es del 3,3%, siendo la mortalidad infantil muy alta. La población es muy joven, ya que el 40% son menores de 15 años (Erickson *et al.*, 1966).

Las principales ciudades son Quito (la capital, con 880.000 habitantes) y Guayaquil (puerto principal, con 1.180.000 habitantes) en las cuales se concentra el 25% de la población total del país (Invierta en el Ecuador, 1992). Esta concentración de la población de Ecuador en estas dos areas urbanas es debida a un importante flujo migratorio durante la segunda mitad del siglo, desde zonas más deprimidas. Así, por ejemplo, en el periodo comprendido entre 1950 y 1962, se produjo un incremento de la población en estas dos grandes ciudades de un 85%, igualmente se ha dado un flujo migratorio desde la Sierra hacia la Costa, incrementándose la población de ésta en un 63,5% (Erickson *et al.*, 1966).

El idioma oficial es el castellano, aunque en algunas partes del país se habla el quichua y otras lenguas aborígenes. Existe libertad de culto, siendo la religión católica la practicada por la mayoría de los habitantes.

Centrándonos en las comunidades negras que viven actualmente en Ecuador, cabe señalar, que nunca han constituido una proporción grande en el país, y parece

que han establecido relaciones con blancos e indios, ya que, la estima del porcentaje de negros puros es bajo (Erickson *et al.,* 1966). Además, en valores absolutos, su número ha variado considerablemente, porque en 1966, su población era, aproximadamente, de 30.000 personas (Erickson *et al.,* 1966), mientras que asciende, en 1987 a 500.000 personas, es decir, el 5% de los 90 millones que existen en América Latina, frente a los 42 millones de indígenas (Savoia, 1987; Benitez y Garcés, 1989). Este notable incremento de negros en Ecuador se debe, no sólo a la tasa de natalidad, sino también al aporte de individuos procedentes de paises limítrofes como Colombia.

Respecto a su distribución dentro de Ecuador, los negros viven dispersos por todo el país, aunque se concentran en mayor número en la provincia de Esmeraldas, constituyendo algo más del 50% del total; del resto del país, las mayores representaciones corresponden al valle de Chota, Imbabura y Carchi con unas 30.000 personas negras, e igualmente, Guayaquil y Puerto Bolivar donde se diseminan unas 70.000, y, por último, en la capital Quito tiene unas 50.000 (Bastide, 1969; Savoia, 1987).

B.2.2. PROVINCIA DE ESMERALDAS:

Wolf al referirse a Esmeraldas dice "es una joya preciosa aunque no labrada en la costa del Pacífico (...) es tan prodigioso este suelo que yo, que habitualmente odio a los mosquitos, tengo que confesar en honor de ellos, que aquí hasta los mosquitos son bondadosos y benignos" (Estupiñan Tello, 1983).

Aparte de esta visión, quizás demasiado lírica, la provincia de Esmeraldas en Ecuador, pertenece al "Litoral Pacífico Húmedo" que es una región perfectamente

delimitada, física como culturalmente, por tratarse de una zona de selva húmeda, con una humedad relativa del 90% y con manglares en la costa y, que presenta una población predominantemente negra, aproximadamente del 80% (West, 1957). Comprende al área andina septentrional, o litoral pacífico ecuatoriano desde la zona de Tumaco en Colombia, hasta el límite meridional de la provincia de Esmeraldas (West, 1957; Whitten, 1974; Whitten y Frieddeman, 1974; Alcina Franch *et al.*, 1987) (Fig. B.7.).

La provincia de Esmeraldas limita al norte con Colombia, al sur con la provincia de Manabi, al este con la provincia de Carchi y al oeste con el océano Pacífico.

Fig. B.7.- *Area que ocupa el "Litoral Pacífico Húmedo" (tomado de Whitten, 1974).*

Tiene una extensión de 15.237 Km^2, y está dividida politicamente en 6 cantones: Esmeraldas, Eloy Alfaro, Muisne, Quininde, San Lorenzo y Atacames; 9 parroquias urbanas y 56 parroquias rurales (Figura B.8.). Según el V Censo de Población de Noviembre de 1990 (INEC, 1991), cuenta con 306.628 habitantes, de los cuales 156.686 son hombres y 149.942 son mujeres, que se distribuyen en los distintos cantones según la Tabla B.4.

Tabla B.4.- *Cantones de la Provincia de Esmeraldas, con la población y porcentaje de individuos afro-esmeraldeños.*

CANTON	*EXTENSION*	*POBLACION*	*% POBL. NEGRA**
ESMERALDAS	2.982	155.456	60%
ELOY ALFARO	4.352	25.389	85%
MUISNE	1.369	22.537	15%
QUININDE	2.962	62.680	20%
SAN LORENZO	3.086	22.552	85%
ATACAMES	486	18.014	35%
TOTAL	15.237	306.628	

* Datos del estudio de Loor Villaquiran facilitados por Monseñor Enrique Bartolucci, Obispo de Esmeraldas (Comunicación personal, 1993).

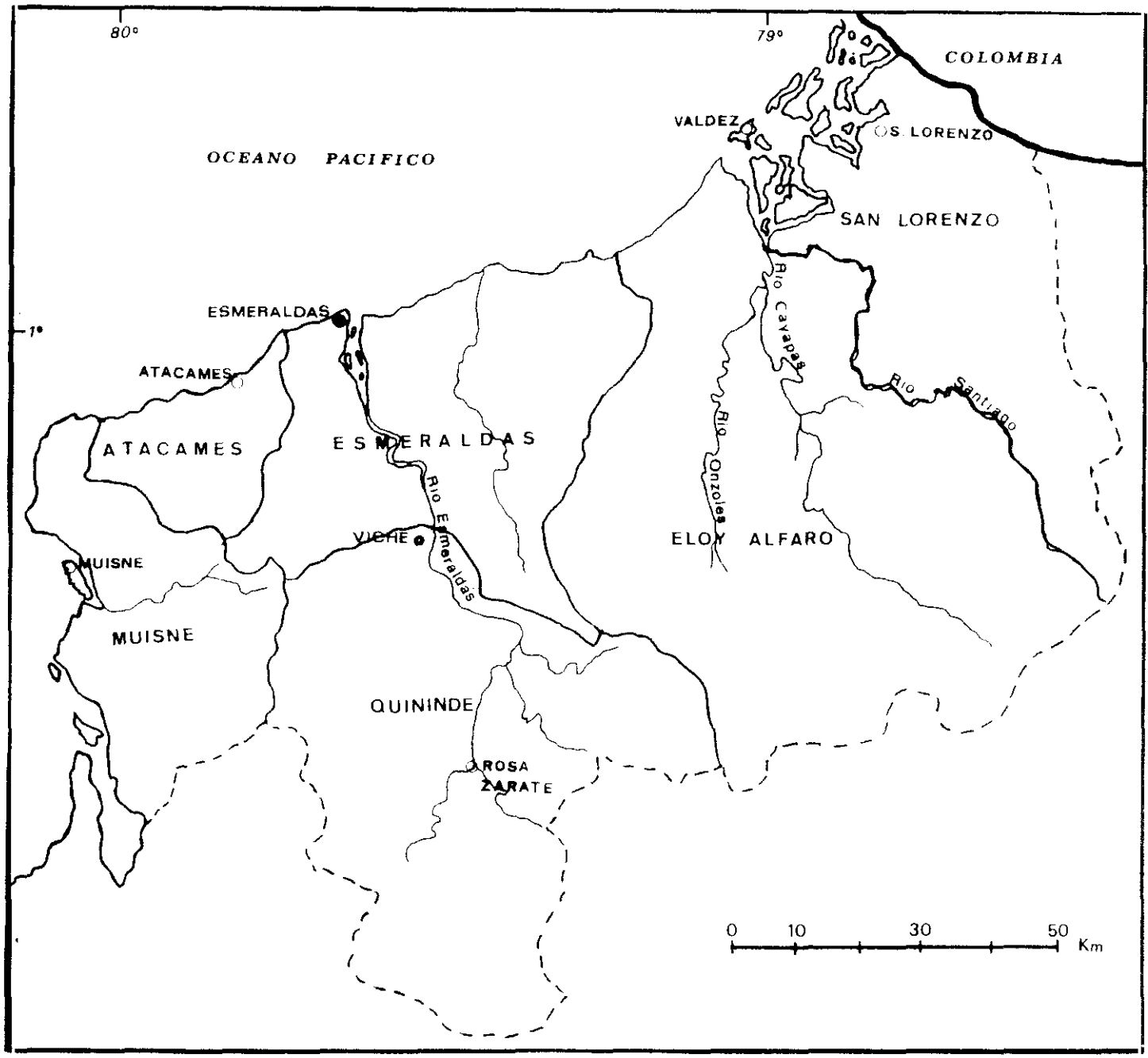


Fig. B.8.- *Mapa de la provincia de Esmeraldas, con sus 6 cantones provinciales (adaptado de INEC, 1991).*

La tasa de crecimiento anual de la población urbana es de 6,4%, mientras que la población rural crece a niveles insignificantes de 0,1%, si bien, en el conjunto, la población de la Costa ha crecido respecto a la de la Sierra.

El relieve de la provincia es generalmente bajo y sus elevaciones no superan los 300 m sobre el nivel del mar. Es muy importante el sistema hidrográfico para los esmeraldeños, pues constituye una vía de comunicación hacia la serranía y camino natural para transportar los productos que les proporciona la tierra. Es de destacar el rio Santiago, que nace en la Cordillera Occidental y recoge las aguas de los rios Uimbi, Bogotá, Tululbí y el Palabí; también, el rio Cayapas, más caudaloso que el Santiago y navegable, nace en las montañas de Intac y sus afluentes principales son el Onzoles y Zapallo Grande. En la desembocadura se une al Santiago y crea un delta en la Bahía de Ancón de Sardinas; el rio Esmeraldas es el más importante, su cuenca abarca 20.000 Km^2, nace con los deshielos del Cayambe, Antizana, Cotopaxi y Pichincha, sus afluentes son el rio Blanco, Guayllamba, Toachi y Quininde. También son importantes las desembocaduras de los rios Santiago y Mataje, que dan origen a manglares y al archipielago de Piankguapí (Conozca el Ecuador, Esmeraldas, 1987).

Los suelos de la provincia de Esmeraldas son muy ricos en recursos vegetales. Mención especial merecen los recursos forestales, que han hecho posible la explotación maderera en una extensión de 3000 hectareas. Estas explotaciones están constituidas por una gran variedad de especies entre las cuales están la balsa, chanul, laurel, sande, madera blanca, virola, guyacán, tangaré; además del caucho y la tagua. Además, el tabaco, café, cacao y bananas han tenido en el pasado un papel muy importante en la economía de la provincia,

debido a la exportación, aunque actualmente este comercio se encuentra muy disminuido y constituyen junto a la yuca, judias, caña de azucar, tomates, mangos y aguacates parte de la dieta básica.

La industria más importante es la de productos químicos derivados del petróleo, la maderera y la de productos alimenticios. Por último, cabe indicar que la situación geográfica de la provincia, su clima y las playas de Atacames, Súa, Same, Camarones y Muisne la han convertido en un importante centro turístico del país.

Como ya se ha indicado, las principales vías de comunicación son los ríos, que por medio de canoas a remo o de motor, se utilizan para el transporte de las mercancías desde el campo hasta las zonas comerciales de la costa. Desde 1957, funciona el ferrocarril desde Ibarra -en la provincia limítrofe de Imbabura- a San Lorenzo, en el litoral.

La situación sanitaria es preocupante. Son habituales enfermedades tropicales como el cólera, dengue, pian, paludismo y fiebre tifoidea, que ocasionan muchas muertes anualmente. Atención especial merece la oncocercosis (debida a la microfilaria una especie de parásito que provoca ceguera irreversible y lesiones en la piel) que ha tenido un gran aumento en los últimos años. El foco principal de esta enfermedad se localiza en las cuencas de los rios Santiago, Cayapas y Onzoles. Focos satélites aparecen a lo largo de los rios Verde, Viche, Canandé, Cojimies, Sucio y Bilsa, debido al desplazamiento de individuos afectados. Desde 1980 a 1986, el aumento de la enfermedad ha sido de un 72,5%, habiéndose extendido en varios kilómetros rio abajo siguiendo el curso del rio Santiago (Guderian, 1992; Palenque, 1992).

En cuanto al nivel de instrucción, Esmeraldas está entre las provincias que mantiene un nivel más alto de analfabetismo, del 18,9% en los varones y un 22,3% en las mujeres, datos correspondientes a la población urbana, ya que en población rural, las cifras son aún más altas.

Esmeraldas, es una provincia con población predominantemente negroide, que tiene su origen en un aporte inicial que se instala en ese área en le siglo XVI, junto a una mayor proporción de recientes inmigraciones procedentes de Colombia que suponen un incremento considerable, iniciadas a mediados del siglo XIX y, que aún continúan en la actualidad (West, 1957; Alcina Franch y Peña, 1980; Cobo y Fresco, 1980).

Actualmente, esta población afro-esmeraldeña se concentra sobre todo en *los cantones de Esmeraldas, Eloy Alafaro y San Lorenzo. Su situación económica* es muy precaria, respecto al conjunto de la población, y se basa en una economía de subsistencia. La tierra es su mayor riqueza, de la cual extrae alimentos, la tagua, el caucho, el palo de balsa y otros productos forestales. Los rios y el mar también les proporcionan pescados y algunos emplean parte de su tiempo en buscar oro en las orillas de los rios. Una buena parte de la población se emplea como peón en las haciendas, en donde realiza trabajos sobre todo agrícolas y también cuida el ganado.

Savoia (1987) se ha interesado por la situación social de esta comunidad y nos refiere en su artículo la desposesión en un periodo reciente de las tierras, que hasta ese momento habían sido poseidas por los afro-esmeraldeños: "con el despojo del derecho a la posesión de las tierras adquirido por siglos de permanencia

y trabajo, y que revierte al Estado las posesiones carentes de título legal de propiedad, la población negra se vé empujada hacia la ciudad".

Una vez residente en la ciudad, al negro costeño, por su tradición y cultura, le cuesta someterse a las exigencias de un trabajo industrializado, por lo cual, viven en condiciones de marginalidad socio-económica y tan sólo se le ofrecen trabajos de mínima categoría: cargador, estribador, vigilante, ayudante de albañilería, subempleado, etc..., incluso, los más cultos ocupan puestos insignificantes en la administración municipal o provincial; otra parte, se dedica al contrabando con Colombia (Diaz, 1977; Savoia, 1987; Benitez Garcés, 1989). Además, en la provincia de Esmeraldas existen unas 10.000 personas que son "morenos" que atraviesan indiferentemente la frontera entre Colombia y Esmeraldas, no se sienten integrados en ninguna de las dos naciones y, en general, son gente sin trabajo fijo (Meloni, 1979).

En cuanto a los asentamientos, hay una fuerte preferencia por pueblos nucleados, si bien las casas se distribuyen irregularmente, y en pocos casos existe una calle o camino planeado. Las construcciones se realizan con ramas de árboles de forma entrelazada y rellenas de adobe o barro, con los tejados de paja. Suelen ser rectangulares con el tejado a dos vertientes.

La familia es el nucleo básico de la sociedad, caracterizada por la poligamia y la organización patriarcal. El índice de matrimonios civiles o eclesiásticos no llega al 10% (Erickson *et al.*, 1966; Herrer, 1978).

Son de religión católica y la mayoría de las fiestas se centran en vocaciones religiosas, como la Navidad y la Semana Santa. Aunque la religión católica está muy introducida por los misioneros, el negro conserva todavía parte de sus ritos

y cultura africana, como es el caso del ritmo y de la música. Según Whitten (1974) y Speiser (1985) la marimba es un instrumento musical, que junto con los bombos, cununus, guazas y maracas sirven para acompañar el canto y el baile en los ratos de descanso y en las fiestas de las comunidades negras, si bien no se encuentran en todas las áreas geográficas con la misma frecuencia. Tanto la música como el baile, han cogido el nombre del instrumento principal que es la marimba. Son también, de destacar, los versos, décimas y cuentos que a modo de diálogo competitivo, acompañados de música recitan cuando tiene lugar un nacimiento, bautizo, matrimonio o la muerte de un ser querido.

Dentro del conjunto de la población afro-americana de la provincia de Esmeraldas, nuestro estudio se ha centrado en dos comunidades pertenecientes al cantón de Eloy Alfaro y de Quininde. Dichas comunidades son:

1.- La comunidad afro-americana que vive a lo largo del Rio Cayapas y de sus afluentes (ver Figura B.8.). Se trata del área más poblada del interior (aproximadamente 10.000 habitantes) del cantón de Eloy Alfaro, donde la población negra alcanza el 85% del total. Esta comunidad domina sobre el grupo de indios *Cayapas* que convive con ellos, formado por cerca de 2000 individuos (Barret, 1925; Carrasco, 1980). Este último grupo, debido a la presión ejercida por los afro-esmeraldeños se ha visto obligado a adentrarse cada vez más en la selva, viviendo en aldeas minúsculas (Ortiz, 1976), alejados y en actitud defensiva (Alcina Franch y Peña, 1980). Por ello, el indio Cayapa no quiere al negro y en esta zona sus relaciones con estos son frías, "odian y temen al negro" (Ortiz, 1983). En consecuencia, parece existir una cierta independencia entre ambas comunidades y, según Diaz (1978), basándose en datos culturales, dice que después de siglos

de coexistir en el mismo territorio no se han producido mezclas significativas entre los dos grupos.

2.- En contraposición a lo indicado para la comunidad de rio Cayapas, dispersa, la otra comunidad afro-americana estudiada, se encuentra localizada dentro de un nucleo poblacional que es Viche (ver Figura B.8.). Esta localidad pertenece al cantón de Quininde, el segundo más poblado de la provincia de Esmeraldas, del cual el 20% de la población es negra. Viche es parroquia en dicho cantón y cuenta con 3.026 habitantes (INEC, 1991) de los cuales un alto porcentaje son mestizos, mulatos y ladinos.

B.2.3. ASPECTOS SOCIALES Y DEMOGRAFICOS:

Según Alcina Franch (1976), es evidente que dentro del primer grupo de negros llegados a Esmeraldas en 1553, se tuvieron que formar parejas entre ellos que prolongaron la estirpe negroide por algunas generaciones, pero, la mayor parte de los varones tuvieron, posiblemente, que mezclarse con mujeres indias, de cuya unión comienza la nueva hibridación "indoafroecuatoriana". Jurado Noboa (1992) documenta que hasta 1790, que se inicia el continuo y numeroso aporte de población negra desde Nueva Granada (actualmente Colombia), la mayoría de la población era indo-mestiza.

Magnus Mörner (1966) opina que la desproporción entre los sexos en el grupo africano forzosamente inmigrado era considerable, encontrándose las mujeres en ínfima minoría. Así, se ha estimado que en la primera generación de negros que desembarcó, había tres veces más de hombres que de mujeres. Por otro lado, "los negros, al igual que los españoles, ejercían una atracción

sexual mayor en las indias que la que ejercían los mismos indios". Estos aspectos hacen que factores políticos, fiscales, religiosos y de protección al indio, obliguen a las Ordenanzas Municipales de Quito a que se cree una legislación en 1551 que ordena: *cualquiera india que se echare con negro recibiría 100 azotes mientras que al negro se le castrase".* Así, se intenta evitar el contacto con los indígenas, porque se considera que "los negros eran portadores de malas costumbres y podían ser elementos subversivos del orden" y existe miedo al resultado biológico de uniones interraciales. Se considera al *zambo* como "maldita generación de negros e indios que no sirven de otra cosa que de ladrones borrachos y verdugos crueles de los miserables indios"; y, además, existe el riesgo de un alianza entre los negros y los indios con el fín de derrocar el dominio de los europeos, tengamos en cuenta que los españoles temían una confabulación de ambas razas en su contra (Magnus Mörner, 1966).

La eficacia de estas leyes no está totalmente valorada, si bien, según Whitten y Friedemann (1974) el resultado de tales restricciones ha sido que en Colombia y Ecuador no existen hoy en día, practicamente, poblaciones de "indios negros" similares a los "Black Caribs" de América Central (Roberts, 1983).

Otro aspecto de gran interés, con una perspectiva distinta a los datos históricos, se refiere al estudio realizado por Savoia (1990) sobre la historia social de la población de Uimbi (en el cantón de Eloy Alfaro, provincia de Esmeraldas). Dicho estudio se ha basado, en parte, en la tradición oral, que se confirma por medio de archivos, dando lugar a resultados de gran

coherencia. Observa que las familias más antiguas proceden de la costa Colombiana, de finales de 1700 y principios de 1800, y lo comprueba, por ejemplo, a través de los apellidos "Valencia" en Uimbi, o "Arroyo" en Playa de Oro.

Se consideran apellidos esencialmente negros: "Mina", "Angulo", "Ayoví", "Nazareno", "Quiñonez", "Caicedo", "Lastre", "Cuero", "Cangá"... que tienen origen en las inmigraciones colombianas (Estupiñan Tello, 1983).

Llegaron de Colombia blancos y mestizos, los "Tello" se asentaron en la Tola; los "Estupiñán" en todas las costas de la zona norte, hasta Rioverde; los "Concha" en todo el rio Esmeraldas y sus afluentes; los "Plaza" en la zona de Atacames. Estas son las migraciones de blancos, pero que llevaban consigo a los esclavos negros, que tenían sus propios apellidos.

De la región interandina llegaron: los "Calderón", "Cervantes", "Coronel", "Jijón", "Pimentel", "Checa".

De Guayaquil: los "Murieta" y "Lavayen", aunque por ejemplo no existen otros de esta ciudad como son "Arosemena", "Illingworth", "Baquerizo", "Rocafuerte"....

De Manabi: los "Cedeño", "Delgado", "Mieles", "Alarcón", "Macías", "Loor", "Dueñas".

Procedentes de Europa son: "Drouet", "Yannuzzelly", "Weir".

Procedentes de Jamaica son: "Wilson", "Car", "Jhonson", "Marret", "Moor" (Moro), "Merlin", "Brown", "Martin", "Goyes", "Klinger", "Broon"...

Savoia (1990) analiza, también, la endogamia, a partir de las parejas formadas, y observa que el pueblo negro "ha quedado aislado y encerrado geográfica y biologicamente", dándose uniones, casi exclusivamente, entre familias del mismo pueblo, que han dado origen a un parentesco generalizado. Por ejemplo, hace referencia a un matrimonio de 1897 que escribe: " ... *impedimento: la abuela del novio fue hermana del abuelo de la novia*", *el cura* escribe además: "... en atención a la estrechez del lugar y a la necesidad de evitar el incesto y legitimizar la prole... los casa..." El autor concluye que, actualmente, la migración es una realidad, y la gente más joven sale al mundo exterior, principalmente a las grandes ciudades, abriéndose a la vida nacional.

C. MARCADORES ESTUDIADOS

C.1. POLIMORFISMOS PROTEICOS.-

Hasta hace 30 años, se creía que casi todos los genes estructurales eran monomórficos. Esta idea se abandonó cuando fué posible estudiar los productos de los genes estructurales por medio de electroforesis de proteínas. Así se ha podido dar una estima del grado de variabilidad de los genes estructurales, que con el estudio de los grupos sanguíneos no era posible, ya que la determinación de un antígeno requería la existencia de un antisuero, y de dos formas alternativas del sistema de grupo hemático para tener la condición de polimorfico.

En 1966, Lewontin y Hubby, y paralelamente Harris introdujeron esta técnica en la Biología de Poblaciones, con la intención de medir la variación génica en poblaciones naturales seleccionando muestras de proteinas elegidas al azar, identificaron las aloenzimas, que son variantes geneticamente controladas por las isoenzimas. Los genetistas de poblaciones y evolucionistas se preocupan cada vez más por el problema del significado biológico de la variación polimórfica en la estructura primaria de las proteinas.

ELECTROFORESIS

En 1937, Tiselius perfeccionó la electroforesis sobre almidón, que permitía la separación de proteinas basado en la movilidad diferencial según su carga neta cuando se aplicaba un campo eléctrico. En 1949 y 1950, mediante la aplicación de estas técnicas, Pauling, Itano y Neel identificaron las variantes S y C de la hemoglobina.

En el caso de la electroforesis sobre geles de poliacrilamida se combina la migración en el campo eléctrico y las dimensiones moleculares sobre un tamizado molecular.

La mezcla de proteinas a separar migra sobre un soporte inerte, tamponado a un valor de pH continuo, estable y lineal, sin que exista un "punto final de migración".

Cuando se aplica un campo eléctrico a un medio que contiene partículas cargadas, las partículas o moléculas con carga negativa (aniones) migran hacia el electrodo positivo (ánodo), mientras que las partículas con carga positiva (cationes) migran hacia el polo negativo (cátodo).

Las proteínas son moléculas anfóteras, es decir, son partículas con carga positiva o negativa dependiendo del tampón o "buffer" en el que se encuentran. En pH básico tienen carga negativa, en el punto isoeléctrico son neutras, y a pH ácido tienen carga positiva.

Tras la electroforesis, las posiciones de las enzimas específicas o de las proteínas no enzimáticas, se pueden visualizar por tinciones histoquímicas específicas aplicadas directamente al medio electroforético. Los fenotipos resultantes son bandas coloreadas indicativas de regiones con actividad enzimática o de concentración proteínica. Para estas bandas se ha propuesto recientemente la denominación de electromorfos.

Aunque la diferente movilidad de los polipéptidos es debida a que existe, al menos, un aminoácido diferente, la misma movilidad no implica secuencias de aminoácidos idénticas. Esto se debe a que 16 de los 20 aminoácidos comunes poseen cadenas laterales no ionizables y son electroforeticamente neutros, dentro

de la gama de pH de los tampones que generalmente se emplean en los estudios electroforéticos. Solo 4 aminoácidos están cargados: Arginina y Lisina son básicos (negativos) y los ácidos Glutámico y Aspártico tienen caracter ácido (positivos).

ISOENZIMA O ISOZIMA son variantes moleculares de una enzima, con diferentes propiedades en su movilidad electroforética, pero que catalizan la misma reacción bioquímica. Sus propiedades físico-químicas pueden ser muy diversas (por ejemplo, catalizar la misma reacción pero con distinta cinética). Pueden estar en una misma célula o bien son distintas isoenzimas las que se encuentras en células de distintos tejidos o presentes en diferentes estados del desarrollo.

La aparición de variantes isoenzimáticas se debe fundamentalmente a:

1) distintos loci codifican para cadenas polipeptídicas de enzimas,

2) un único locus con múltiples alelos que codifican para distintas cadenas polipeptídicas,

3) las llamadas isoenzimas secundarias, debidas a modificaciones post-traduccionales de las cadenas polipeptídicas.

El caso más frecuente es el del alelismo múltiple. Así, en un mismo individuo pueden existir distintas cadenas. En el heterocigoto, con dos alelos distintos, se presenta un patrón más complejo respecto a los homocigotos.

1. Si la enzima es monomérica (una sola cadena polipeptídica) el heterocigoto es una cadena mezcla y a su vez diferenciada de la de los homocigotos.

2. Si la enzima es multimérico (con dos o más cadenas) aparecen isoenzimas hibridos. En este caso se pueden presentar

2.1. Homoméricas: cuando las distintas subunidades son cadenas polipeptídicas todas iguales.

2.2. Heteroméricas: cuando las distintas subunidades son distintas cadenas polipeptídicas.

El patrón electroforético depende del número de subunidades de la enzima y del número de cadenas polipeptídicas distintas con las que se forma la enzima.

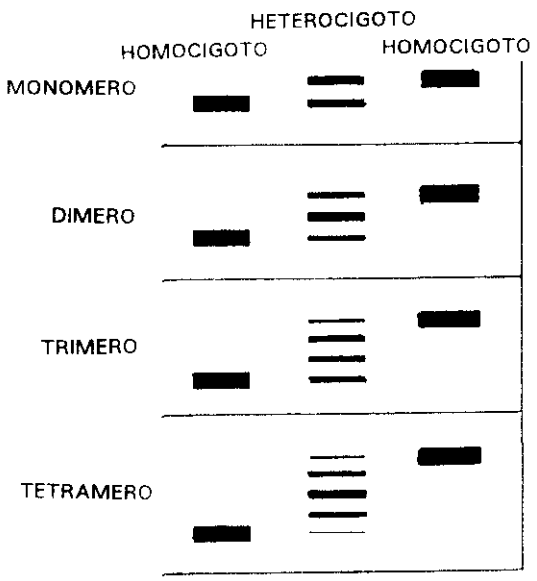


Fig. C.1.- *Patrón de bandas electroforético de las proteinas según su estructura (tomado de Harris y Hopkinson, 1976).*

Las electroforesis presentan una serie de limitaciones como por ejemplo:

1) proteinas con distinta estructura primaria, y formadas por distintos alelos, pueden ser indistinguibles electroforeticamente, y por lo tanto definidas como productos de un mismo alelo.

2) variantes con distinta actividad enzimática, isoelectroforéticas, solo son distinguibles en el caso de una muy distinta actividad, identificable desde el punto de vista cuantitativo.

3) no permite distinguir productos génicos inactivos o ausencia de productos génicos, resultado de una delección total o parcial del gen.

Algunas de estas limitaciones se han superado por el uso de una técnica descubierta por Kolin en 1955, el isoelectroenfoque (IEF). Se basa en la separación de distintos isoenzimas en un campo eléctrico en el cual se ha establecido un gradiente de pH. Las proteinas migran a lo largo del gradiente hasta detenerse en el punto en el cual el pH del gel corresponde al pI de la enzima. Esta técnica presenta un alto poder de resolución, y una diferencia de 0,01 unidades en el valor de pI puede dar lugar a una separación apreciable. Por esta técnica ha sido posible identificar en los polimorfismos nuevos subtipos con frecuencias apreciable dentro de los ya existentes, así como una microheterogeneidad, que no había sido evidente a través de la electroforesis convencional, como es el caso del PGM1.

C.1.1. FOSFATASA ACIDA ERITROCITARIA (E.C. 3.1.3.2.)

CARACTERISTICAS:

Las fosfatasas ácidas (ortofosfórico monoester fosforilasa ácida) son enzimas pertenecientes al grupo de las fosfohidrolasas y fosfotransferasas, que catalizan la transferencia de grupos fosfato desde esteres fosfato a agua (reacción de hidrólisis) o a varios alcoholes aceptores (reacción de transferencia). Son capaces de actuar en dos pasos: el primero es la reacción del enzima y el sustrato ester fosfato, con la consecuente formación de un complejo enzima-fosfato y un derivado alcohólico (Golden y Sensabaugh, 1986).

$$E + R\text{-}OP \longrightarrow E\text{-}P + R\text{-}OH$$

Las reacciones de hidrolisis y transferencia son alternativas y producen respectivamente fosfato inorgánico o un nuevo ester fosfato:

$$E\text{-}P + Agua \longrightarrow E + Pi \quad \text{(Hidrólisis)}$$

$$E\text{-}P + R'\text{-}OH \longrightarrow E + R'\text{-}OP \quad \text{(Transferencia)}$$

Aunque su función fisiológica no es aún conocida, estos mismos autores sugieren que su papel biológico podría ser el de una flavin mononucleótido fosfatasa, dada su marcada especificidad por la riboflavina 5-fosfato.

En el hombre, se han identificado distintas enzimas con propiedades fosfatásicas y con máxima actividad para los valores de pH inferiores a 7, que han sido clasificadas en relación con los tejidos en los cuales se han encontrado por primera vez, o en los que se ha observado una mayor actividad. Se han diferenciado una fosfatasa ácida eritrocitaria, hepática, renal, prostática y

placentaria (Harris y Hopkinson, 1976).

Estas formas isoenzimáticas son codificadas por distintos loci, así, la fosfatasa ácida eritrocitaria es determinada por un locus simple ACP1 que codifica para isoenzimas monoméricas, mientras que la placentaria es determinada por dos loci: ACP2 y ACP3 que codifican para isoenzimas monodiméricas y heterodiméricas. Es probable que otros loci sean responsables de la determinación de otras isoenzimas.

VARIANTES FENOTIPICAS Y MODELO GENETICO:

La fosfatasa ácida eritrocitaria no es específica de glóbulos rojos, se ha demostrado su actividad en hígado, riñón, músculo esquelético, bazo, próstata y leucocitos (Blake *et al.,* 1973).

Inicialmente, se descubrieron por electroforesis en geles de almidón 5 fenotipos distintos, denominados A, AB, AC, BC y B según su distinta movilidad (Hopkinson *et al.,* 1963), mientras que el fenotipo C fué identificado más tarde (Lai *et al.,* 1964). Los estudios familiares demostraron que estos fenotipos eran debidos a la presencia de 3 alelos codominates comunes ACP1*A, ACP1*B y ACP1*C (Hopkinson *et al.,* 1964).

Son distintas formas isoenzimáticas codificadas por un único locus autosómico localizado en el brazo corto del cromosoma 2, y más concretamente en la región 2p25.1 (Junien *et al.,* 1979; Wakita *et al.,* 1985).

Los seis fenotipos comunes representados en la Figura C.2., se diferencian por la presencia de patrones electroforéticos con distinta movilidad y actividad relativa. El patrón de los homocigotos A, B y C se caracteriza por dos componentes

isoenzimáticas, una rápida ("fast", *F*) y otra lenta ("slow", *S*) según la movilidad anódica. Las isoenzimas As y Af tienen movilidad específica y presentan actividad relativa equivalente, los isoenzimas Bs y Cs y las Bf y Cf presentan, por parejas, igual movilidad pero distinta actividad enzimática. Las bandas Bs y Cf tienen una actividad menor respecto a las bandas Bf y Cs. Los patrones de los heterocigotos consisten en la presencia simultanea de las bandas correspondientes a ambos alelos, y es indicativo de la estructura monomérica de las isoenzimas.

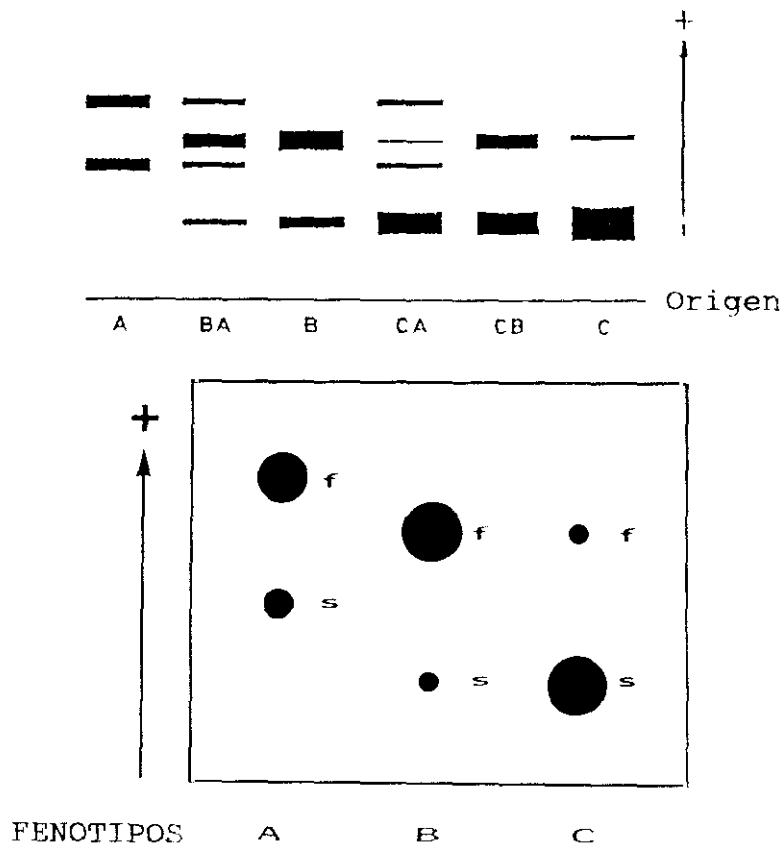


Fig. C.2.- *a) Patrón electroforético de los seis fenotipos comunes de la enzima ACP1 en tampón citrato/fosfato a pH 5,9 (tomado de Harris, 1975). b) Detalle de los homocigotos ACP1 A, B y C, con las movilidades y actividades relativas de los isoenzimas s y f (tomado de Dissing y Sensabaugh, 1988).*

Por estudios llevados a cabo en las dos componentes isoenzimáticas s y f producidas por los tres alelos ACP1*A, ACP1*B y ACP1*C, se ha demostrado que existen diferencias significativas en la actividad específica, Km, Ki, composición aminoacídica, estabilidad frente a la temperatura y otras características físicas y químicas para las isoenzimas *f* y *s* formadas para cada uno de los alelos ACP1*A, ACP1*B y ACP1*C; sin embargo, presentan características idénticas o muy similares las tres isoenzimas *f* codificadas por los tres alelos distintos, y las tres isoenzimas *s*. Esto sugiere que las isoenzimas *f* y *s* llevan a cabo funciones celulares distintas (Dissing y Svensmark, 1990).

Dissing y Sensabaugh (1987, 1988) postularon al estudiar las isoenzimas Bs y Bf que podrían ser sintetizadas por entidades moleculares separadas, y que era posible que el locus ACP1 estuviese formado por dos genes estructurales ligados que codificaban para proteinas similares, pero no idénticas.

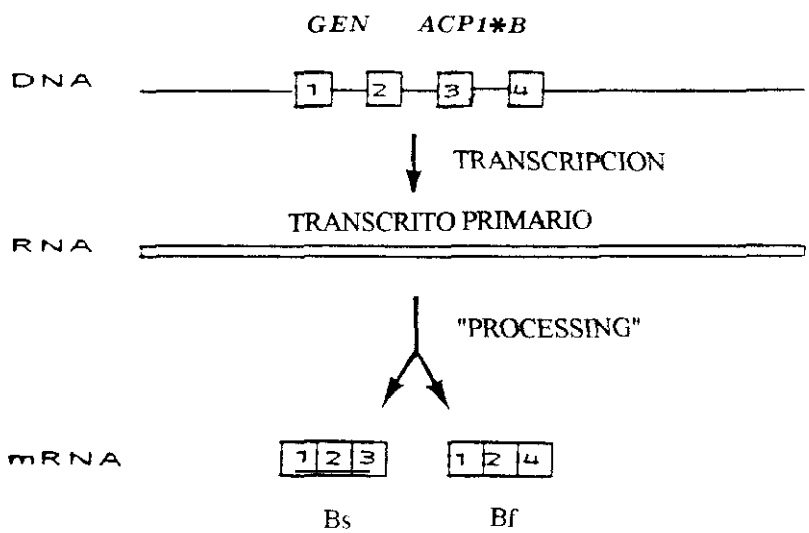


Fig. C.3.- *Mecanismo hipotético para la formación de los diferentes RNAm s y f por medio de un "splicing" alternativo del gen ACP1*B (tomado de Dissing y Sensabaugh, 1988).*

Esto requeriría mutaciones muy poco probables para cada par de genes asociados de los alelos ACP1*A, ACP1*B y ACP1*C, y además, se podrían dar recombinaciones entre los genes ligados, dando lugar a variantes que no se han descrito. Por este motivo, lo más probable, es que las isoenzimas *f* y *s* asociadas a cada alelo surjan por un "splicing" alternativo del RNAm transcrito (Figura C.3.), el cual ya ha sido descrito para otras proteinas polimórficas. Incluso se podría predecir, que los productos génicos ACP1*B y ACP1*C, los cuales tienen igual movilidad electroforética, tuvieran secuencias peptídicas idénticas.

El análisis por isoelectroenfoque de las variantes comunes de la ACP1 no ha mostrado diferencias en su patrón de bandeo, ni ha mostrado otro polimorfismo (Burdett *et al.*, 1977; Randall *et al.*, 1980).

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Se ha demostrado que la actividad fosfotransferásica es fenotipo dependiente. La cantidad de actividad fosfatásica ácida relativa a los diferentes fenotipos ha mostrado gran variabilidad en el ámbito de la misma clase fenotípica y una diferencia significativa entre las actividades medias de las seis clases fenotípicas. Los eritrocitos de individuos C, B y A presentan una variación media de la actividad que puede ser expresada aproximadamente en la relación 4:3:2. Los heterocigotos tienen niveles de actividad intermedios a los valores encontrados para los distintos homocigotos. En la Figura C.4. están representadas las distribuciones de actividad fosfatásica eritrocitaria en las poblaciones generales y en los fenotipos comunes (Spencer *et al.*, 1964b; Harris 1975; Mohrenweiser y Novotny, 1982).

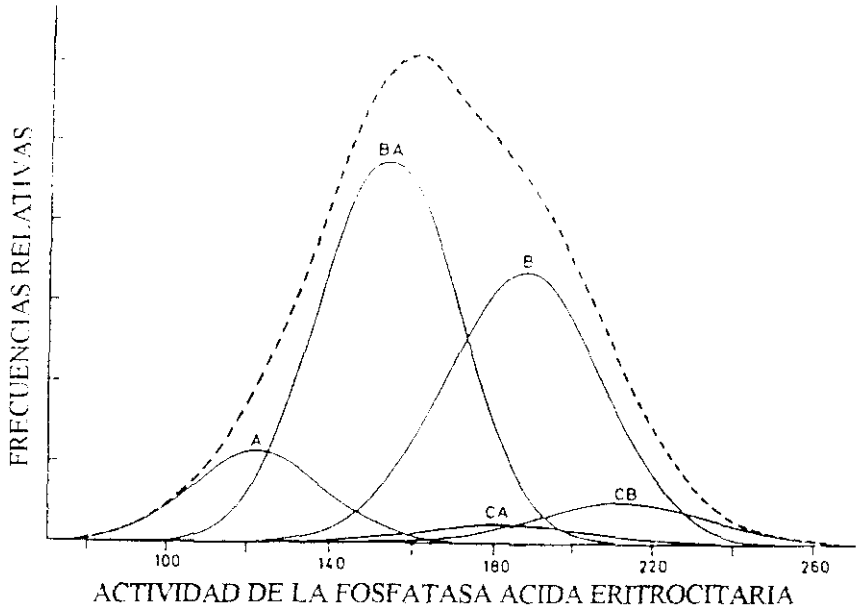


Fig. 1.3.- *Distribución de la actividad fosfatásica eritrocitaria en población general y en los fenotipos comunes (tomado de Harris, 1975).*

También se han encontrado diferencias en el comportamiento de los alelos con respecto a su termoestabilidad para temperatura entre los 47 y 54°C en el orden C > B > A (Luffman y Harris, 1967).

La actividad fosfatásica es activada con distinta intensidad según el fenotipo por la adenosina (CA > CB > A > BA > B), inosina e hipoxantina (B > BA > A > CB > CA), mientras que el ácido fólico tiene un efecto negativo (C > CA > CB > A > BA > B) (Mansfield y Sensabaugh, 1978; Sensabaugh y Golden, 1978).

Lucarini *et al.*, (1989) y Gloria-Bottini *et al.*, (1989) han encontrado una modulación de la actividad fosfatásica genotipo ADA dependiente. La adenosina deaminasa transforma la adenosina, que no tiene efecto modulatorio apreciable sobre la actividad fosfatásica, en inosina, que es un potente modulador de esta última. En efecto, en los individuos con fenotipo ADA 1-1 se presenta una actividad mayor respecto a los de fenotipo ADA 1-2.

La función fisiológica de esta enzima no ha sido aclarada, pero Mohrenweiser y Novotny (1982) consideran que la ACP eritrocitaria es la fosfatasa del flavin mononucleótido (FMN). Han observado que con la variante ACP1*GUA-1, asociada a una baja actividad fosfatásica, hay un incremento de la actividad de la glutation reductasa y una presencia mayor de esta proteina en la forma holoenzimática. La variante ACP1*GUA-1 descrita por primera vez por Tanis *et al.,* (1977) es polimórfica (13%) en los indios Guaymi de América Central (Costa Rica y Panamá). Las dos isoenzimas determinadas de este alelo, tienen una movilidad electroforética similar a la de las isoenzimas comunes Bs, Bf, Cs y Cf, pero son distinguibles porque presentan menor actividad relativa; los homocigotos raros de este alelo, presentan una casi completa ausencia de actividad y los heterocigotos una actividad relativa inferior a la de ambos homocigotos B y C.

INTERES ANTROPOLOGICO:

La fosfatasa ácida eritrocitaria es un utilísimo marcador antropológico. Además de los dos alelos comunes ACP1*A y ACP1*B, que presentan frecuencias polimórficas en todas las poblaciones humanas, el alelo ACP1*C es típico de las poblaciones caucasoides. Un cuarto alelo, ACP1*R, restringido a poblaciones negroides, fué detectado en negros americanos (Giblett y Scott, 1965), y más tarde se comprobó que aparecía en poblaciones sudafricanas con frecuencias elevadas de hasta el 24% (Jenkins y Corfield, 1972; Harris y Hopkinson, 1976).

En las Figuras C.5. y C.6. aparecen las distribuciones de las frecuencias de los alelos ACP1*A y ACP1*C en distintas poblaciones humanas.

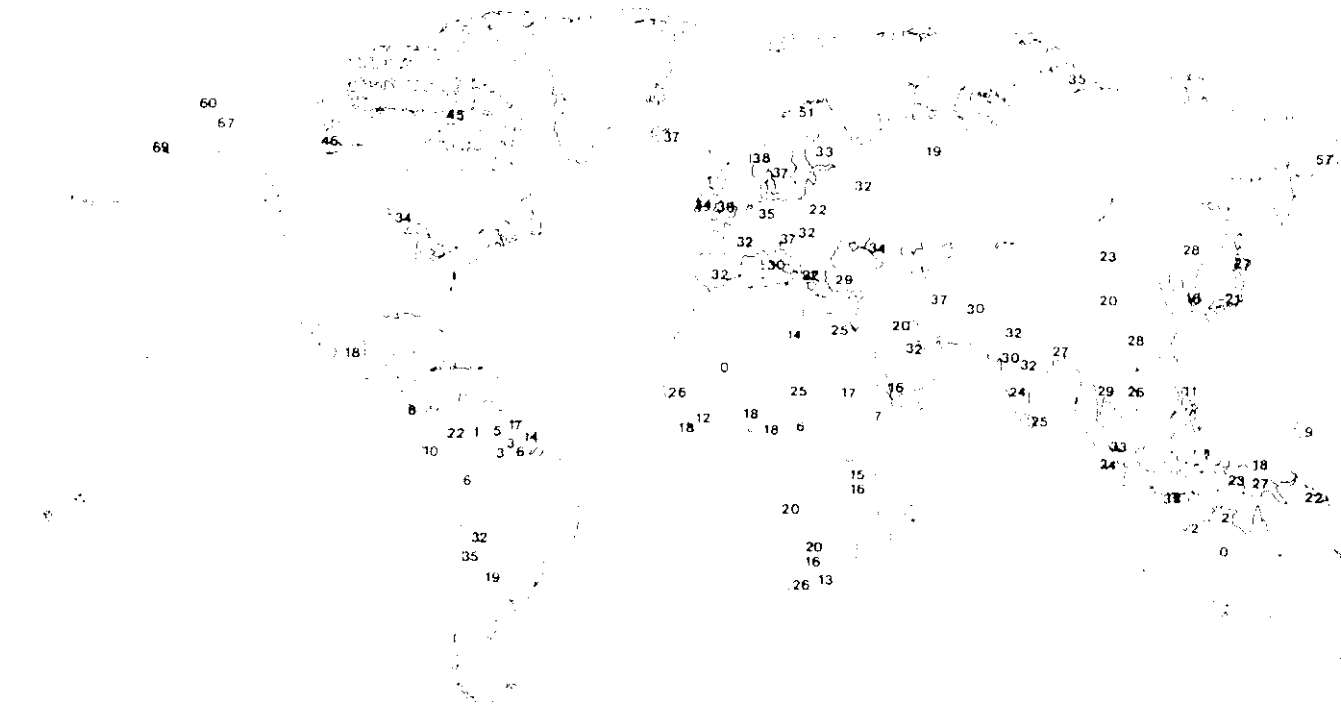


Fig. C.5.- *Frecuencias percentuales en distintas poblaciones humanas del alelo ACP1*A (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Fig. C.6.- *Frecuencias percentuales en distintas poblaciones humanas del alelo ACP1*C (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Además, se han descrito numerosas variantes, algunas con frecuencias polimórficas en determinadas poblaciones humanas, como es por ejemplo, el alelo ACP1*GUA-1 ya descrito y el ACP1*TIC-1 encontrado con frecuencia del 11% en los indios Ticuna del Brasil (Neel *et al.*, 1980). En la tabla C.1 aparecen algunas de las variantes alélicas raras encontradas y en la Figura C.7. se presentan los patrones electroforéticos e isoelectroforéticos en relación a las variantes comunes de algunas de ellas.

Tabla 1.1.- *Variantes alélicas raras del locus ACP1.*

VARIANTE	*POBLACION*	*REF. BIBLIOGRAFICA*
ACP1*D	Thailandia	Karp y Sutton, 1967 (1
ACP1*E	Dinamarca	Sorenson, 1975 (1)
ACP1*F	España, Negros U.S.A.	Radam, 1982; Nelson et al., 1984 (1
ACP1*G	España, Negros U.S.A.	Radan, 1982; Nelson et al., 1984 (1
ACP1*H		Martin et al., 1982 (1)
ACP1*I		Martin et al., 1982 (1)
ACP1*K	Polonia	Turoweka, 1984; Kühnl y Spielmann, 1985 (1)
ACP1*M	Negros americanos	Nelson et al., 1985 (1)
ACP1*N	Negros americanos	Shirley et al.,1987 (1); Miller et al., 1987
ACP1*P	Blancos americanos	Shirley et al.,1987 (1); Miller et al., 1987
ACP1*S	Blancos americanos	Shirley et al.,1987 (1); Miller et al., 1987
ACP1*T	Blancos americanos	Miller et al., 1988
ACP1*U	Blancos americanos	Miller et al., 1988
ACP1*TIC-1	Indios Ticuna, Brasil	Yoshirara y Mohrenweiser, 1980 (1
ACP1*GUA-1	Indios Guaymi,Costa Rica	Mohrenweiser y Novotny, 1982 (1
ACP1*KUK	Checoslovaquia	Arnaud et al., 1989

(1) Citado en Miller *et al.*, (1988).

También, se han identificado por estudios familiares alelos "silentes" ACP1*0 (Herbich *et al.*, 1970; Dissing y Svensmark, 1976; Dobosz, 1983; Raczec y Grzesik, 1986).

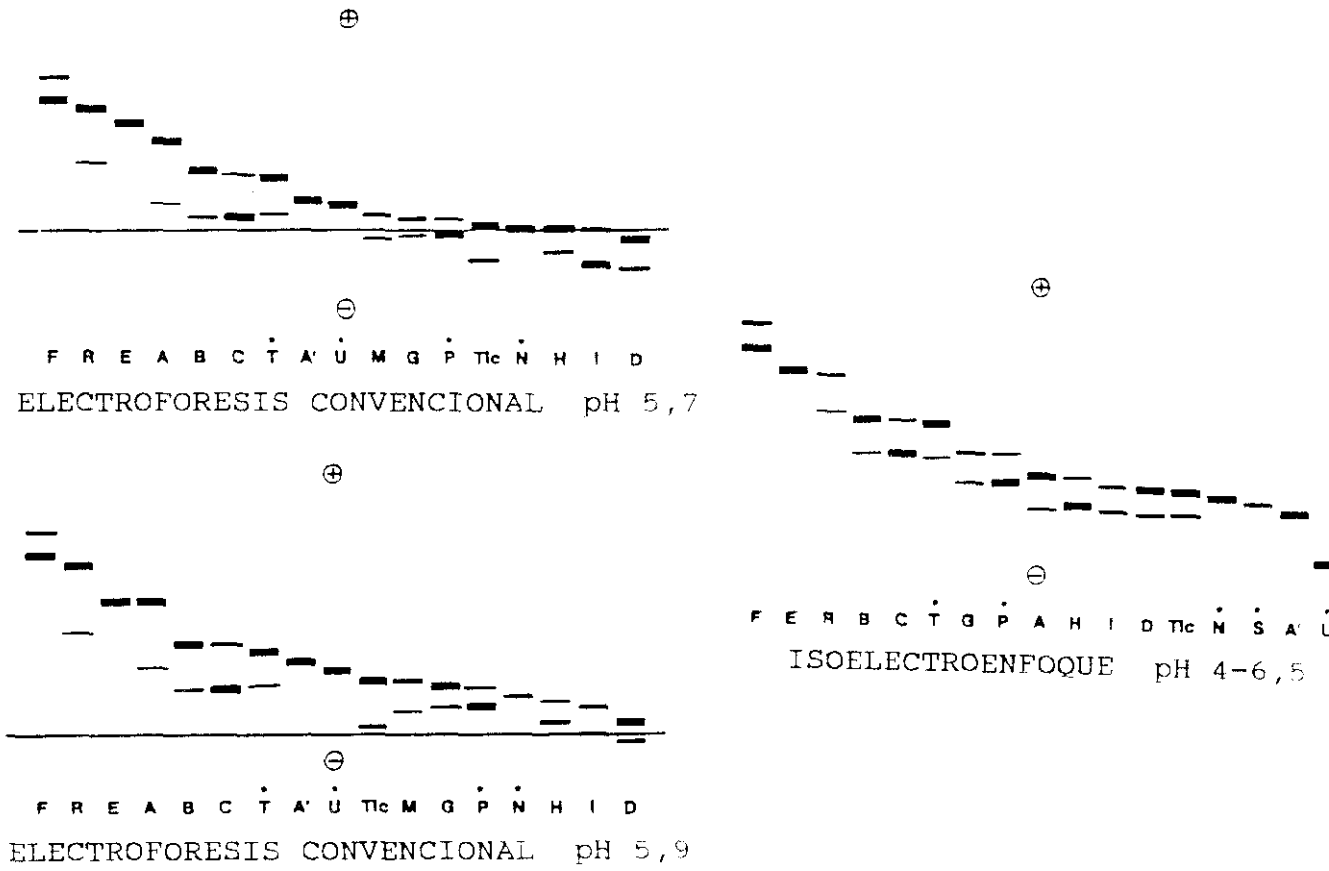


Fig. C.7.- *Patrón electroforético e isoelectroforético de los componentes isoenzimáticos codificados por variantes alélicas raras y comunes (tomado de Miller et al., 1988).*

Asimismo, con respecto a la distribución mundial de los distintos alelos de la ACP1, hay que mencionar las observaciones de Walter (1976) sobre la correlación negativa y significativa entre las frecuencias de ACP1*A y la temperatura media anual, lo que llevó a suponer que el gen ACP1*B podría tener una ventaja selectiva en los climas cálidos. Spedini *et al.,* (1980) han observado en poblaciones de Africa correlaciones significativas entre el alelo ACP1*R y la humedad. Modiano *et al.,* (1968) en estudios llevados a cabo en Cerdeña, observan que las frecuencias de ACP1*A y ACP1*C son más elevadas y con actividad superior en individuos ß-talasémicos y deficitarios para la G6PD. Sin embargo,

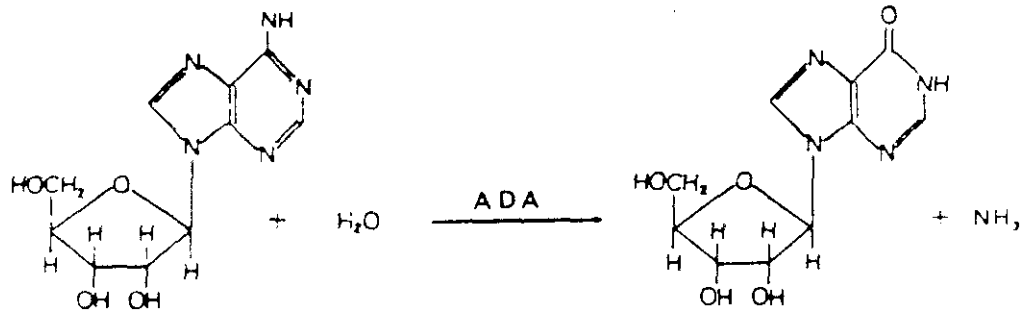
Palmarino *et al.,* (1975) destacan que la frecuencia del alelo ACP1*C está correlacionada positivamente con la altitud y negativamente con la malaria y la presencia de G6PD Mediterránea.

Además, han sido muchos los estudios que han tratado de evidenciar una posible relación entre los fenotipos de la ACP1 y distintas enfermedades, si bien en pocos casos se ha observado una correlación significativa. Son de destacar la relación entre el fenotipo CB y la psoriasis vulgaris (Walter *et al.,* 1977), la posible asociación entre el fenotipo A y BA con las enfermedades atópicas del tipo de la dermatitis atópica, fiebre del heno, rinitis alérgica, asma bronquial y urticaria aguda (Brachtel *et al.,* 1979); las enfermedades reumáticas (Krylov *et al.,* 1985); el aumento de la actividad enzimática en pacientes con anemia megaloblástica (Hopkinson *et al.,* 1964) y la elevada frecuencia del alelo ACP1*A en niños con mayor desarrollo intrauterino o macrosómicos (Amante *et al.,* 1990).

C.1.2. ADENOSINA DEAMINASA (E.C. 3.5.4.4.)

CARACTERISTICAS:

La adenosina deaminasa (ADA, adenosina aminohidrolasa) cataliza la reacción irreversible de deaminación de la adenosina y de la 2-desoxiadenosina respectivamente, en 2' desoxiinosina (Figura C.8.).



Adenosina Inosina

Fig. C.8.- *Reacción de deaminación irreversible catalizada por la adenosina deaminasa (tomado de Cuzzocrea et al., 1984).*

La acción catalítica de esta enzima, al igual que otras que intervienen en el catabolismo de las purinas, es de vital importancia para la actividad celular, provocando su alteración efectos clínicos. Así, con la ausencia de actividad adenosina deaminásica linfociataria está asociada una forma severa de inmunodeficiencia (SCID) (Giblet *et al.*, 1972); el incremento de la actividad adenosina deaminásica provoca una anemia hemolítica crónica (Kahn *et al.*, 1979).

Edwards *et al.*, (1971) han encontrado diferentes isoenzimas en todos los tejidos y órganos examinados, pero varían sus patrones electroforéticos. Las isoenzimas de los glóbulos rojos se conocen con el nombre de "ADA eritrocitaria" y se han encontrado en todos los tejidos, excepto en el riñón. Además de estos,

se han descrito otras cinco isoenzimas "específicas de tejidos" llamadas *a, b, c, d* y *e* en función de su patrón de migración, son probablemente isoenzimas secundarias, derivadas de la "ADA eritrocitaria" (Figura C.9.).

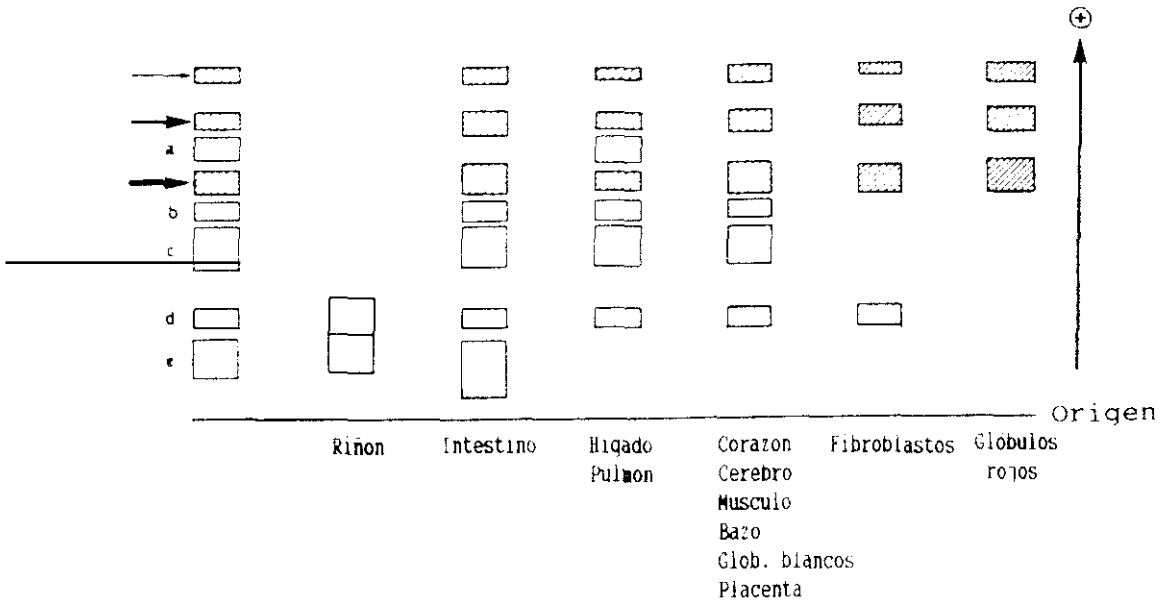


Fig. C.9.- *Diagrama que muestra las isoenzimas ADA en distintos tejidos (tomado de Edwards et al., 1971).*

La isoenzima *a*, la más anódica, sólo se ha encontrado en hígado y pulmón, donde es la componente isoenzimática prevalente. Las isoenzimas *b* y *c* tienen distribución más amplia, y unicamente no están presentes en fibroblastos y riñón. Las *d* y *e* son las predominantes en riñón e intestino pero, mientras que la forma *e* está presente sólo en estos dos órganos, la *d* aparece en todos los tejidos y órganos analizados. Respecto a los pesos moleculares, para las isoenzimas de los eritrocitos, se obtuvo un valor de 33970 dalton, de 280000 dalton para las *b* y *c*, siendo la *e* la de peso máximo con 435000 dalton, lo cual podría indicar que las isoenzimas ADA histoespecíficas se hallan compuestas de polímeros (Edwards *et al.*, 1971).

VARIANTES FENOTIPICAS Y MODELO GENETICO:

El polimorfismo de la adenosina deaminasa se describió por primera vez por Spencer *et al.*, (1968) en electroforesis sobre geles de almidón a pH 6,5, usando lisados eritrocitarios.

Se han identificado tres patrones comunes distintos (Figura C.10.). El primero, denominado 1, está constituido por tres componentes isoenzimáticas situadas a intervalos regulares que muestran una intensidad de coloración progresivamente menor en relación directa a su distancia. El segundo, denominado 2, presenta también tres componentes isoenzimáticas y una igual disminución de la intensidad de coloración en sentido anódico, aunque todas las componentes difieren del patrón 1 por una movilidad electroforética menor. El último fenotipo, el 2-1, presenta 4 componentes, que son el resultado de la sobreposición de los dos patrones precedentes, consecuencia de la estructura monomérica de esta enzima.

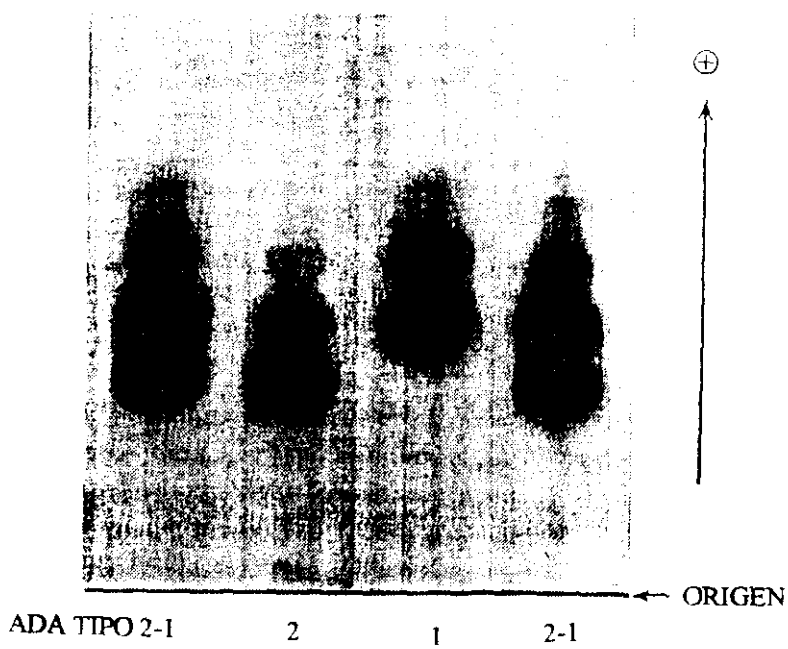


Fig. C.10.- *Patrón de bandas de los isoenzimas de la ADA (tomado de Spencer et al., 1968).*

Spencer *et al.*, (1968) han obervado, una alteración progresiva de los patrones electroforéticos de la enzima al aumentar los días de conservación del hemolizado a 4°C. En efecto, para los fenotipos 2 y 1, las componentes isoenzimáticas de movilidad más lenta disminuyen la intensidad hasta desaparecer después de algunos días; las otras componentes muestran sin embargo, un aumento de la intensidad de la coloración y, en ambos patrones, aparece una banda con migración más anódica. En la Figura C.11. se comparan los patrones de un individuo con fenotipo 1, obtenidos de un hemolizado fresco, y después de varios días de conservación a 4°C.

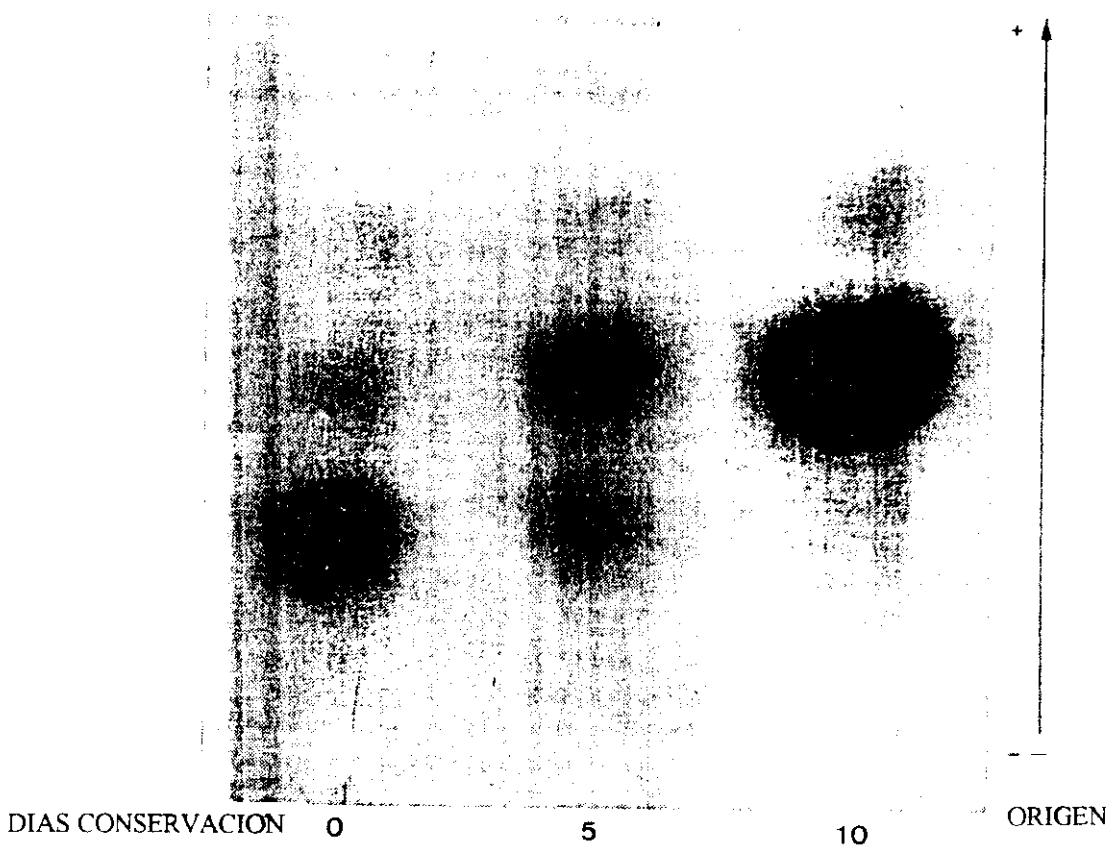


Fig. C.11.- *Fotografía del gel electroforético con los patrones de la enzima ADA observados en tres hemolizados de fenotipo ADA 1, y que han sido conservados 0, 5 y 10 días a 4°C (tomado de Hopkinson y Harris, 1969).*

Un cambio similar se observa también para el fenotipo 2-1, pero resulta más difícil de hacer una descripción precisa dada la mayor complejidad del patrón. Este efecto de "conservación", resulta acelerado si se añade en el hemolizado fresco glutation oxidado, y en el hemolizado conservado puede ser disminuido añadiendo ß-mercaptoetanol o glutation reducido (Hopkinson y Harris, 1969). El cambio en el comportamiento electroforético de las componentes isoenzimáticas en el hemolizado conservado ha sido explicado como resultado de la reacción que tiene lugar entre el grupo tiólico presente, en la superficie de la enzima, con el glutation oxidado que se encuentra en concentración elevada en el hemolizado, cuando este es conservado en refrigerador. Esto conlleva a la formación de un compuesto mixto enzima-SG con liberación de GSH:

$$(ADA) - SH + GSSG \longrightarrow (ADA) - S - SG + GSH$$

La incorporación de tripéptidos implica la introducción de dos grupos carboxílicos y de un grupo amínico y por lo tanto, un incremento de la carga negativa de la enzima, con un cambio en la movilidad electroforética. Esta hipótesis se ha probado experimentalmente por Hopkinson y Harris (1969), observando las variaciones de los patrones electroforéticos añadiendo reactivos tiólicos, como el iodoacetato, iodoacetamida o maleato. Dichas variaciones resultaron compatibles con las de la hipótesis del grupo SH libre en cada banda de la ADA eritrocitaria.

Tischfield *et al.*, (1974) han localizado el locus que codifica para la adenosina deaminasa en el brazo largo del cromosoma 20. Estudios más recientes de Honig *et al.*, (1984) y Rothschild *et al.*, (1993) lo han situado en la región

20q12-q13.1 entre el centrómero y el locus D20S17. El locus está estrechamente relacionado con el correspondeinte a SAHH, que codifica para la S-adenosil homocisteina hidrolasa (Mohandas *et al.*, 1984; Bissbort *et al.*, 1987).

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Battistuzzi *et al.*, (1981) han estudiado la distribución de actividad adenosin deaminásica en lisados eritrocitarios intactos y en lisados linfocitarios, en los fenotipos 1 y 2-1. Los resultados se observan en la Figura C.12. La comparación de la distribución de actividades enzimáticas de los lisados eritrocitarios en los dos fenotipos muestra una superposición aunque, de forma general, los valores más altos se encuentran en el fenotipo 1 y los más bajos en el 2-1.

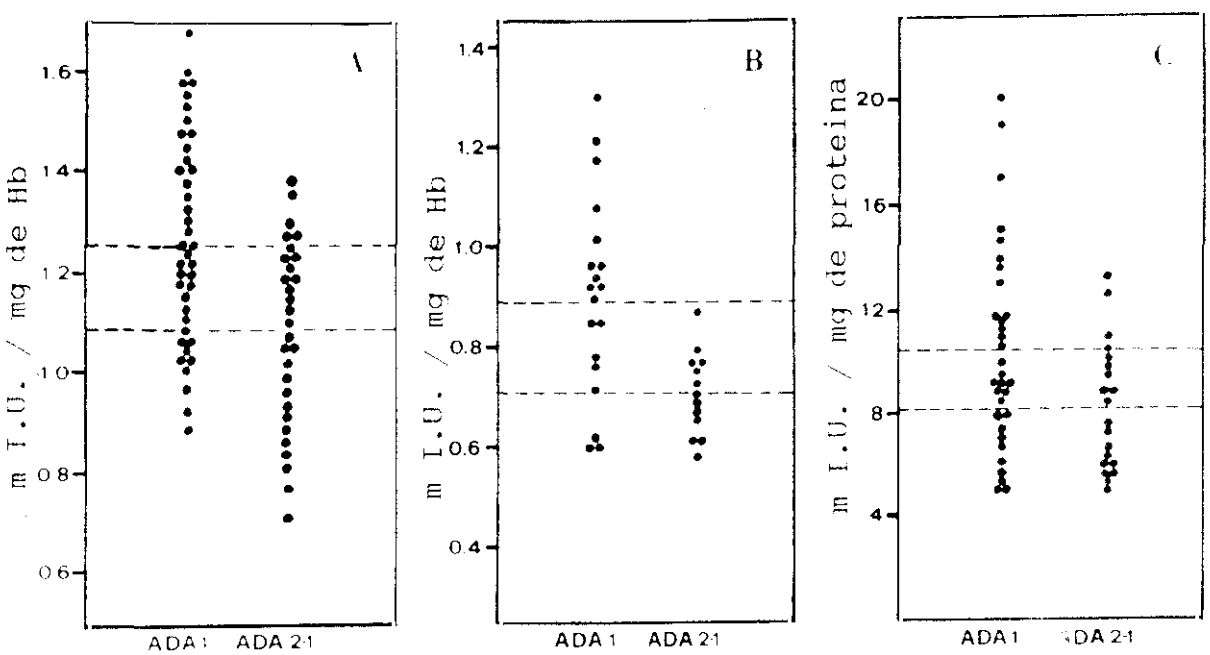


Fig. C.12.- *Distribución de la actividad enzimática ADA de los fenotipos 1 y 2-1 en a) hemolizados, b) eritrocitos intactos, c) linfocitos. Las lineas horizontales indican los valores medios de actividad (tomado de Battistuzzi et al., 1981).*

Una distribución similar, también ha sido descrita por Roger y Hopkinson (1981). La actividad en los eritrocitos intactos ha resultado, por el contrario, significativamente distinta. Inicialmente, se ha relacionado con una forma letal de inmunodeficiencia debida a una insuficiente actividad para esta enzima (actividad inferior al 1% respecto al normal, tanto en eritrocitos como en linfocitos). En otros casos, la deficiencia de esta enzima, al menos en los eritrocitos, no parece causar patología alguna (Jenkins *et al.*, 1979). Las principales consecuencias de un déficit para la actividad adenosindeaminásica linfocitaria son el marcado acúmulo en estas células de dos sustratos, la adenosina y la 2-desoxi-adenosina, que, a concentración elevada, resultan ser tóxicas. Asociado al déficit de la actividad adenosindeaminásica, se ha observado también un déficit de la actividad de la S-adenosil-homocisteina hidrolasa. Esta última escinde la S-adenosil homocisteina en adenosina y homocisteina. Su baja actividad es debida, probablemente, a la elevada concentración de adenosina y 2-desoxi adenosina, potentes inhibidores de este enzima. Resultaría, así, un acúmulo de S-adenosil-homocisteina, que, a su vez, produciría la inhibición de todas las reacciones de transmetilación S-adenosilmetionina dependientes. Dicho acúmulo sería responsable, al menos en parte, del déficit inmunitario (Kredich y Hersfield, 1979, 1983).

Hirschhorn y Ellenbogen (1986) han puesto en evidencia la heterogeneidad genética que caracteriza la deficiencia de la actividad adenosin deaminásica. Así han identificado en diversos individuos deficitarios para la ADA, distintas isoenzimas anómalas que difieren en la movilidad electroforética, pI, estabilidad para los valores de Km y Vmax.

Jenkins *et al.*, (1979) han encontrado en los !Kung de la República

Sudafricana una frecuente deficiencia de ADA debida a la presencia del alelo ADA*8, común en esta población con frecuencias del 11%, que codifica para una enzima caracterizado por una baja estabilidad. El fenotipo ADA 8 presenta un nivel de actividad enzimática eritrocitaria del 2-3% respecto al normal, y del 30% en los linfocitos, de forma que no causa consecuencias en el sistema inmunitario.

INTERES ANTROPOLOGICO:

El locus ADA es polimórfico en las poblaciones asiáticas y europeas, en donde la frecuencia del alelo ADA*2 suele ser inferior al 10%. En Africa, sólo en unas pocas poblaciones ha resultado ser polimórfico. En amerindios, los datos disponibles hasta ahora, indican ausencia de polimorfismo (Figura C.13.).

Fig. C.13.- *Distribución porcentual de las frecuencias del alelo ADA*2 en distintas poblaciones humanas (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Además de las tres variantes fenotípicas 1, 1-2 y 2, comunes en casi todas las poblaciones humanas, se han identificado otras variantes raras. En la tabla C.2. aparece la relación de las variantes alélicas raras hasta ahora descritas, y en la Figura C.14. el patrón electroforético de algunas de ellas.

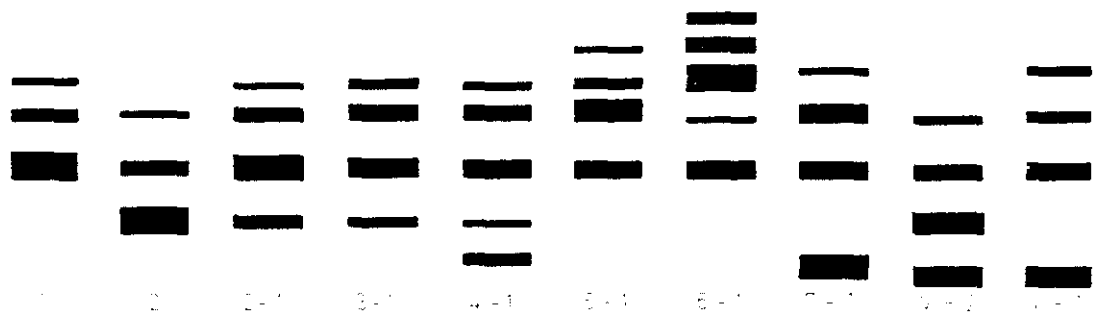


Fig. C.14.- *Patrón de bandas de algunas de las variantes raras del locus ADA en relación a los fenotipos comunes (tomado de Henke et al., 1986).*

Tabla C.2.- *Variantes raras del locus ADA.*

VARIANTE	*POBLACION*	*REF. BIBLIOGRAFICA*
ADA*3	Inglaterra	Hopkinson y Harris, 1969
ADA*4	Dinamarca	Dissing y Knudsen, 1969
	Alemania	Manz et al., 1979 (1)
ADA*5	Negros U.S.A.	Detter et al., 1970 (1)
	Mozambique	Renninger y Bimboese, 1970
	Checoslovaquia	Radam et al., 1975
ADA*6	Alemania	Radam et al., 1974
ADA*7	Alemania	Berg et al., 1975 (1)
ADA*8	!Kung, Sudafrica	Jenkins et al., 1979
ADA*9	Bulgaria	Nenkov et al., 1981 (2)
	Alemania	Henke et al., 1986

(1) Citado en Weissmann *et al.*, 1982.
(2) Citado en Henke *et al.*, 1986.

Al igual que para otras enzimas, se ha descrito un alelo silente que en heterocigosis determina una disminución de, aproximadamente, la mitad de la actividad enzimática, respecto de los genotipos normales (Brinkmann *et al.*, 1973; Chen *et al.*, 1974). Dicho alelo ADA*0 parece estar asociado con la "inmunodeficiencia severa" (SCID, "Severe Combined immunodeficiency"), ya que los niños que presentan dicha enfermedad son también deficientes en ADA (Chen *et al.*, 1974).

C.1.3. ADENILATO QUINASA (E.C. 2.7.4.3.)

CARACTERISTICAS:

La adenilato quinasa (ATP-AMP transferasa) pertenece al grupo de las transferasas. Participa en la fosforilación del adenosindifosfato (ADP), que se transforma en adenosintrifosfato (ATP).

$$2\ ADP \rightleftharpoons ATP + AMP$$

Se han identificado tres tipos de adenilato quinasas. La AK1, AK2 y AK3, que se distinguen electroforeticamente y por técnicas bioquímicas e inmunológicas. Las isoenzimas AK1 son sensibles a la inhibición con bajas concentraciones de nitrato de plata, mientras que las AK2 son resistentes a este tratamiento. Tanto la AK1 como la AK2 se encuentran en hígado, corazón y riñon, pero en eritrocitos, músculo esquelético y cerebro, sólo existe la AK1 (Khoo y Russell, 1972). El tercer grupo de isoenzimas, la AK3, fueron descubiertas recientemente, y se diferencian de las anteriores por su movilidad electroforética, que es más anódica, y por la especificidad de sustrato, ya que sólo presentan actividad con GTP+AMP o ITP+AMP pero no con el ATP+AMP, parece ser que se trate de la nucleosidotrifosfato adenilato quinasa (E.C. 2.7.4.10.). Estas AK3 parecen resistentes al $AgNO_3$ y se han descrito en placenta, higado y cerebro, no apareciendo en glóbulos rojos (Wilson *et al.*, 1976).

El peso molecular de la AK es de 24000 D en hematies humanos. Es característica su estabilidad frente al calor y a valores extremos de pH.

El locus AK1 se encuentra en el cromosoma 9, al igual que el locus AK3

(Povey *et al.*, 1976), mientras que el locus de la isoenzima AK2 se localiza en el cromosoma 1 (Nguyen Van Cong *et al.*, 1972).

VARIANTES FENOTIPICAS Y MODELO GENETICO:

Fildes y Harris (1966) descubrieron el polimorfismo de la AK1, por electroforesis en gel de almidón, con tampón citrico-NaOH a pH 7,0. Llevaban a cabo una reacción química que provocaba la reducción del MTT y formación de formazan en los sitios donde la enzima era activa. Dicha reacción, que aparece en la Figura C.15., es la conversión enzimática del ADP a ATP produciendo fosfato que se requiere para el paso de glucosa a glucosa-6-fosfato por acción de la hexoquinasa. A continuación, la glucosa-6-fosfato es oxidada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, con la consiguiente reducción de NADP a NADPH, el MTT es reducido a formazán en presencia de PMS y se observa un color azul-violáceo.

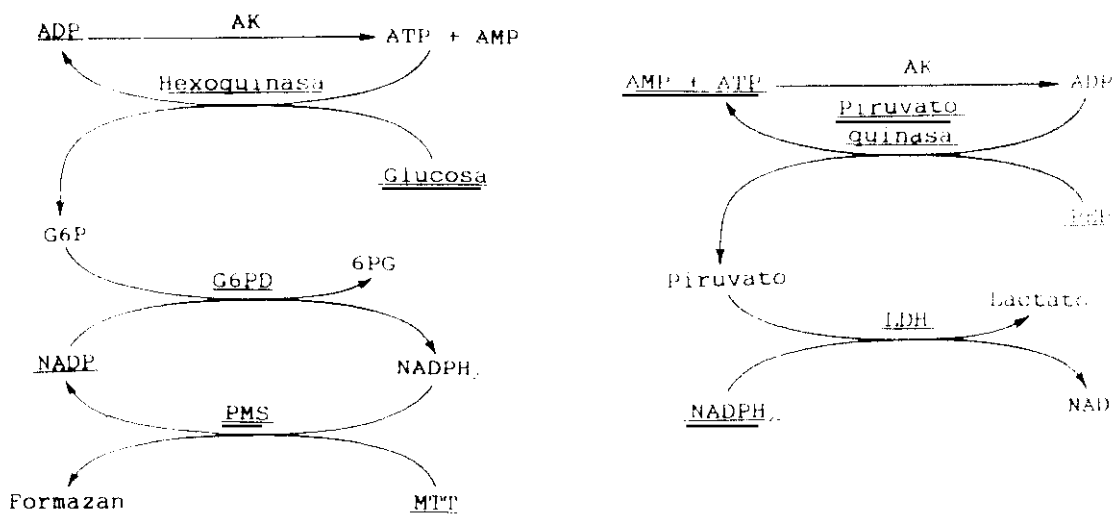


Fig. C.15.- *Reacción química que produce la coloración de la actividad de fosfenilato quinasa. El ADP es el sustrato y los otros compuestos subrayados se encuentran en la mezcla de reacción (tomado de Fildes y Harris, 1966).*

Esta enzima, también se puede visualizar por la reacción de fosfo-enolpirúvico a ácido pirúvico y el paso de este a láctico, por acción de la enzima láctico deshidrogenasa.

Se observaron tres fenotipos distintos, el AK1 1, 1-2 y 2. Los tres fenotipos difieren entre sí por el número, intensidad y posición de las bandas isoenzimáticas (Figura C.16.). El fenotipo AK1 1 se compone de dos bandas, la más intensa practicamente en el punto de origen y otra, menos coloreada, hacia el ánodo. Existen, además, otras dos bandas menos intensas más anódicas. El fenotipo AK1 2-1 consta de las mismas bandas, pero más claras, y de una quinta banda catódica. Finalmente, el fenotipo AK1 2 se caracteriza por una banda catódica muy activa y una banda de menor intensidad en el punto de partida. Dicho modelo, característico de una estructura monomérica, no difiere en los hematíes y en los distintos tejidos corporales.

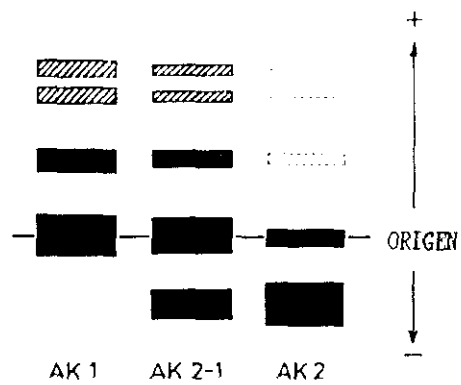


Fig. C.16.- *Patrón de bandas de los distintos fenotipos de la AK1 en electroforesis en gel de almidón con tampón citrato-NaOH a pH 7,0 (Tomado de Fildes y Harris, 1966).*

Por estudios familiares, Fildes y Harris (1966) interpretaron estos tres fenotipos como combinaciones de los productos génicos de dos alelos codominantes autosómicos, el AK1*1 y el AK1*2.

Bowman *et al.*, (1967) con tampón de migración fosfato a pH 6,2, observaron que el fenotipo AK1 1 tenía una sola banda cercana al origen, el AK1 2 una sola banda más catódica y, el heterocigoto ambas bandas (ver diagrama de la Figura C.18.). Al no observar las bandas secundarias que veían Fildes y Harris (1966) dedujeron que eran debidas a la incubación prolongada y que correspondían a una coloración secundaria de las enzimas G6PD y PGD.

Asimismo, se ha observado que el patrón de bandas de esta enzima presenta bandas adicionales en pacientes con leucemia aguda granulocítica, leucemia linfoblástica y anemia aplástica (Schlesinger *et al.*, 1986).

Dicho locus se encuentra en el cromosoma 9, en la región 9q34 (Ferguson *et al.*, 1976), y se ha visto que está en acoplamiento cromosómico con el locus del sistema ABO, a una distancia de 0,15 unidades de recombinación (Rapley *et al.*, 1967). En dicha región cromosómica aparecen los genes ABO-NP (responsable del sídrome de Nail-patella u onicopatelar) y AK1 (Schleuterman *et al.*, 1969, Ozelius *et al.*, 1992).

El gen consta de 12 kb y tiene 7 exones y 6 intrones (Matsuura *et al.*, 1989). El peso molecular de los productos génicos es de 21,7 KDaltons. Se han analizado las secuencias aminoacídicas de los productos proteicos de los alelos AK1*1 y AK1*2, y se ha observado que sólo existen diferencias en el péptido del segmento 109-127, donde el glutámico de la posición 123 en el producto del AK1*1 es glutamina en el del AK1*2, produciendo cambios en la estructura

terciaria de la proteina (Luz *et al.*, 1990).

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Respecto a la actividad enzimática, parecen existir diferencias entre los distintos fenotipos. Rapley y Harris (1970) y Modiano *et al.*, (1970b), en adultos, observaron que la actividad AK1 1 era mucho más elevada que la del fenotipo AK1 1-2. Sin embargo, estas diferencias no se confirman en sangre de cordón umbilical, donde la actividad enzimática es más reducida que en la sangre de adulto. Luz *et al.*, (1990) afirman que la actividad de la isoenzima del alelo AK1*2 es 3,5 veces menor que el del AK1*1.

Se ha identificado un alelo silente AK1*0, que en heterocigotos induce una disminución de la actividad enzimática del 50% (Singer y Brock, 1971; Weissman y Pribilla, 1981).

La deficiencia de la adenilato quinasa está asociada con la aparición de anemia hemolítica. Se ha observado que la sustitución de la Arg por Trp en posición 128, afecta a la actividad catalítica y a la solubilidad de la AK en el citosol (Matsuura *et al.*, 1989).

INTERES ANTROPOLOGICO:

En todas las poblaciones humanas predomina el alelo AK1*1, siendo en muchas de ellas monomórfico, ya que el alelo AK1*2 sólo aparece con una frecuencia relativamente elevada en las poblaciones de origen europeo (Figura 3). Existen algunas excepciones, como son los Sandawe y Nyaturu en Tanzania que presentan frecuencias del 1% para el alelo AK1*2 y en la India y Pakistán de,

aproximadamente, un 10% (Tills *et al.*, 1970; 1971).

Fig. 3.- *Distribución del alelo AK1*2 en las distintas poblaciones del mundo (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Además de los alelos AK1*1 y AK1*2, se han identificado algunos alelos raros. Así, Bowman *et al.*, (1967) describieron un fenotipo raro AK1 3-1 caracterizado por la banda del alelo 1 y una banda más anódica. También, han observado este alelo raro AK1*3 Radam y Strauch (1971) en un familia de Berlín, y Seger *et al.*, (1978). El alelo AK1*4, identificado por Rapley *et al.*, (1967) se caracteriza por una migración más lenta que el alelo AK1*1. Finalmente, Santachiara-Benerecetti *et al.*, (1972), en Andra Pradesh (India) han identificado

un alelo AK1*5. El patrón de bandas, respecto a los fenotipos normales se puede observar en la Figura C.18.

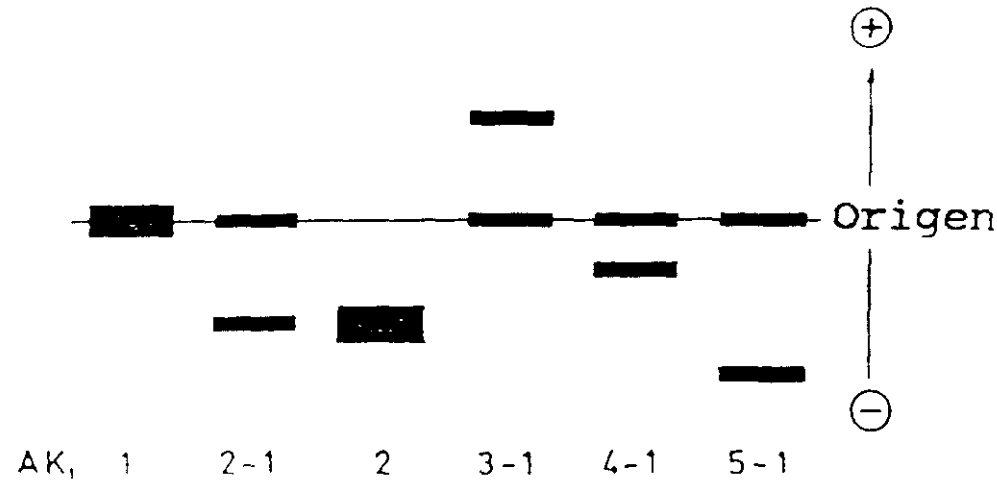


Fig. C.18.- *Patrón de bandas de las variantes raras respecto a los fenotipos normales de AK1 llevados a cabo por electroforesis a pH 7,0 (tomado de Harris y Hopkinson, 1976).*

El alelo AK1*2, además de ser relativamente frecuente en Europa, se ha encontrado a menudo en pacientes hemofílicos (Laszlo *et al.*, 1985).

C.1.4. CARBONICO ANHIDRASA II (E.C. 4.2.1.1.)

CARACTERISTICAS:

Las carbónico anhidrasas (carbonato dehidratasa o carbonato hidrolasa) aceleran el intercambio de O_2 y CO_2. Además de la hidratación de CO_2 y deshidratación del bicarbonato o ácido carbónico, catalizan la hidratación de los aldehidos o llevan a cabo una actividad esterásica. Así, las funciones serían:

1) $CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3 \qquad H^+ + HCO_3^-$

2) $R\text{-}CHO + H_2O \longrightarrow R\text{-}CR\,(OH)_2$

3) $R\text{-}COOR' + H_2O \longrightarrow R\text{-}COO^- + H^+ + R'\text{-}OH$

Son metaloenzimas que llevan zinc en su molécula. Se han identificado en todos los seres vivos, incluso en bacterias, debido a su función fundamental. En un principio, en el hombre, se identificaron tres formas isoenzimáticas que se llamaron A, B y C. Tashian (1969) denominó Carbonico-anhidrasas I y II (CA1 y CA2) a las B y C, proponiendo que la A era un isómero de la isoenzima B.

Tanto la CA1 como la CA2 presentan gran actividad en lisados de glóbulos rojos adultos, pero sólo aparecen trazas en los glóbulos rojos fetales. Parece ser que no se alcanzan los niveles de actividad del adulto hasta la edad de cinco años.

La CA1 se encuentra, "post mortem", en otros tejidos, como son el hígado, riñón, retina; sin embargo, la CA2 presenta una distribución mucho más amplia en los tejidos, si bien, en el feto la actividad en los mismos tejidos es siempre muy baja.

Se ha detectado una carbónico anhidrasa III (CA3) que se encuentra, principalmente, en el músculo esquelético. También, se ha descrito la carbónico anhidrasa IV (CA4), asociada a la membrana y en las mitocondrias, principalmente en el pulmón; se ha descrito, incluso, hasta una carbónico anhidrasa VII (CA7) (Montgomery *et al*, 1991).

Todas ellas son proteínas globulares, con un peso molecular de 29.000 D, con cierta homología en su secuencia aminoacídica, pero con distintos papeles fisiológicos.

Se ha comprobado que son determinadas por distintos loci autosómicos. Por otra parte, mientras que la CA1 migra anodicamente, la CA2 lo hace catodicamente, si bien existen variantes genéticas con una movilidad alterada.

La CA1 y CA2 se diferencian entre sí en numerososos parámetros fisico-químicos, como es el pH óptimo, la Km o la inhibición por acetazolamida. Igualmente se ha observado que el metil-umbeliferil acetato es hidrolizado rapidamente por la CA1, pero lentamente por la CA2; sin embargo, el fluorescindiacetato es el sustrato óptimo de la CA2 mientras que tiene peor afinidad por la CA1.

VARIANTES FENOTIPICAS Y MODELO GENETICO:

Se han descrito numerosas variantes alélicas para la CA1 (Harris y Hopkinson, 1976), mientras que para la CA2, después de examinados 1256 individuos de distintas poblaciones, Moore *et al.,* (1971) observó una variante en negros americanos, que se denominó CAH. Dicha variante tenía una movilidad electroforética más acusada respecto a la correspondiente normal CA C. Se

identificaron homocigotos C y H y heterocigotos CH. En 1973, Moore *et al.*, confirmaron la teoría de que la CA*C y CA*H eran alelos de una misma isoenzima, y posteriormente, a esta CA*C se la dió el nombre de CAII*h y más tarde de CA2*2.

Hopkinson *et al.*, (1974) describen el patrón de bandas de los tres fenotipos de la CA2, atribuidos a dos alelos comunes el CA2*1 y el CA2*2 (Figura C.19.).

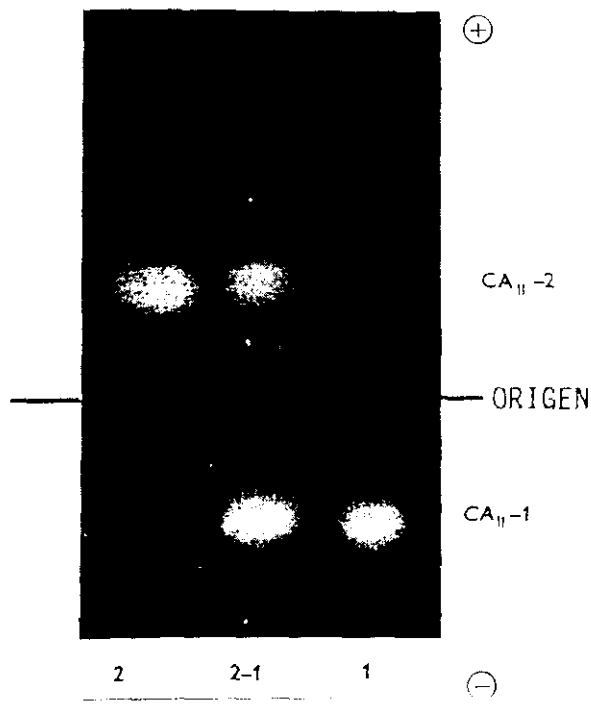


Fig. C.19.- *Patrón de bandas de los tres fenotipos comunes de la CA2 (tomado de Hopkinson et al., 1974).*

El fenotipo CA2 1 es una isoenzima que migra catodicamente, el 2-1 presenta dos bandas características del patrón del fenotipo 1 y del fenotipo 2, típico de estructura monomérica.

Esta variante CA2*2 que sólo aparece con frecuencias polimórficas en población negra, se ha detectado que es debida a la sustitución de una asparragina (Asn) de la posición 253 por ácido aspártico (Asp) (Lin y Deutsch, 1972).

El locus de la CA2 se localiza en el cromosoma 8 (Venta *et al.*, 1983), concretamente en la región 8q22 (Nakai *et al.*, 1987). En esta región está el cluster de las carbónico anhidrasas y se ha comprobado que están en el orden CA2, CA3 y CA1. Las dos primeras distan 20 Kb y la CA1 está separada de la CA3 80 Kb y se transcribe en dirección opuesta a las CA2 y CA3 (Lowe *et al.*, 1991). El gen de la CA2 está formado por 7 exones y 6 intrones (Figura C.20.) con un tamaño de 35 Kb.

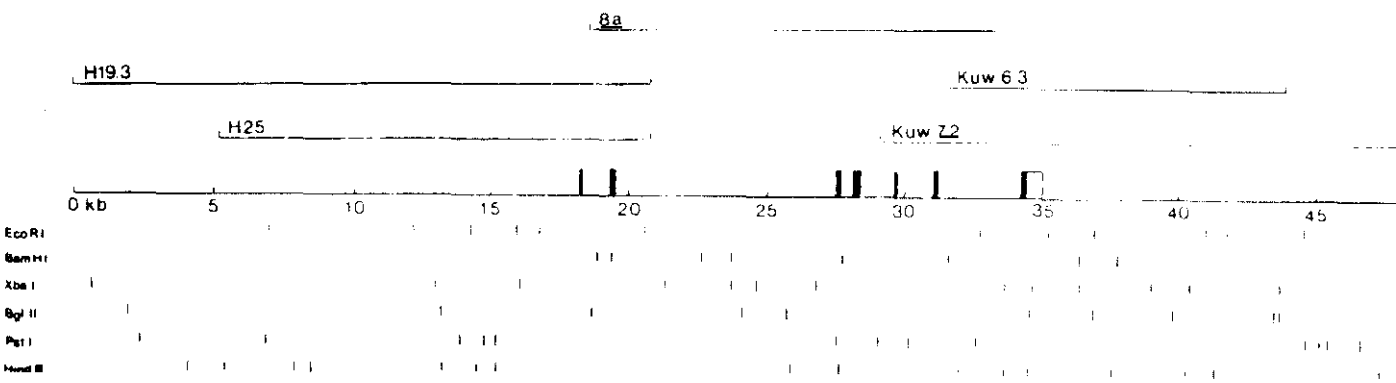


Fig. C.20.- *Modelo genético del gen de la Carbónico anhidrasa II (tomado de Venta et al., 1991).*

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Estudios familiares, en los que los miembros de la familia presentaban niveles de actividad bajos para ambas isoenzimas, CA C y CA B, indicaron que existe un control genético cuantitativo para los niveles de esta enzima.

Se ha estudiado el caso de una familia que presentaba deficiencia para la CA2 provocada por una mutación puntual que cambiaba el aminoácido histidina (His), de la posición 107, por tirosina (Tyr), al cambiar el triplete CAT por TAT (Venta *et al.*, 1991). También, se ha observado que existen una serie de aminoácidos invariables en las carbónico anhidrasas, que hacen posible su actividad

catalítica como por ejemplo, la Ser29, Gln28, Pro30, Tyr194, Ser197 y Trp209 (Martensson *et al.*, 1992), o la His94 donde se une el zinc (Alexander *et al.*, 1993). Si los aminoácidos entre las posiciones 190-210 se ven alterados, la actividad enzimática disminuye (Krebs y Fierke, 1993).

La actividad CA esta regulada por distintos factores hormonales, así, se ha observado que existe una correlación inversa entre la concentración de tiroxina en el plasma y los niveles de CA1 y CA2 en los glóbulos rojos. La presencia de progesterona o estrógenos en la sangre puede inducir un aumento de la actividad de la CA en el endometrio (Tashian y Carter, 1976). Estudios más recientes han puesto en evidencia que la calcitonina (CT) duplica la actividad de la CA2, mientras que la hormona paratiroidea (PTH) provoca una disminuión de la actividad en un 50%. Esto indica que la CT regula la actividad enzimática en dos lugares de intercambio de CO_2, como son el eritrocito y el pulmón (Arlot-Bonnemains *et al.*, 1985).

Por otro lado, siendo una metaloenzima que contiene zinc, cuando los niveles de éste son bajos en el plasma, aparecen niveles bajos de CA.

Los niveles de actividad, tanto para la CA1 como la CA2 son ligeramente mayores en población negra. Además, el que no exista una distribución bimodal respecto a la concentración de CA en los glóbulos rojos, (Figura C.21.) parece sugerir que se trata de un modelo de control poligénico (Tashian y Carter, 1976).

Tanto en población caucasoide como negroide se ha observado una correlación directa entre los niveles de CA1 y CA2.

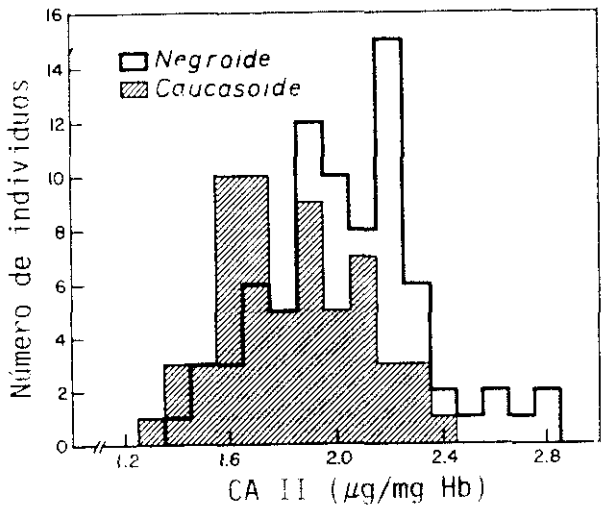


Fig. C.21.- *Distribución de los niveles de actividad CA2 en varones y mujeres adultos (tomado de Tashian y Carter, 1976).*

La deficiencia de CA2 está asociado a un síndrome autosómico recesivo de osteopetrosis con acidosis tubular renal y calcificación cerebral (Sly *et al.*, 1983).

En recién nacidos, se ha observado una retención de CO_2, hipoperfusión pulmonar y atelectosis, cuando los niveles de actividad de la CA en el cordón umbilical eran muy bajos (Tashian y Carter, 1976).

INTERES ANTROPOLOGICO:

El alelo CA2*2 solamente se presenta en poblaciones negroides y su frecuencia varía desde 0 en poblaciones de Uganda y Etiopía hasta 0,19 en Nigeria (Carter, 1972) (Figura C.22.).

Fig. C.22.- *Distribución de las frecuencias del alelo CA2*2 en distintas poblaciones del mundo.*

Se han descrito algunas variantes raras para la CA2:

- CA2*Bombay o CA2*3, que presenta frecuencias del 1,3% en Parsis (India) y frecuencias muy bajas en Marathi, Bombay (Ghosh, 1978).

- CA2*Australia o CA2*4 variante descrita en aborigenes de Australia, con frecuencias del 1,6% (Blake, 1978).

- CA2*London presente en afroamericanos que viven en Inglaterra (Tashian *et al.*, 1980).

- CA2*Detroit en caucasoides de Estados Unidos (Tashian *et al.*, 1980).

- CA2*Hiroshima, descrita en Japón (Goriki, citado en Tashian *et al.*, 1980).

- CA2*Jogjakarta, descrita en la isla de Java (Indonesia), en la cual la lisina que se encuentra en posición 17 cambia por el glutámico, provocando un pI que difiere en 0,8 unidades respecto de la CA2 normal. Este cambio aminoacídico es provocado por una mutación puntual: AAA/G por GAA/G. La especificidad

enzimática y la constante cinética no es distinta de la variante normal (Jones *et al.*, 1982).

- CA2*Melbourne, descrita en Melbourne (Australia), en la cual la prolina de posición 237 cambia por histidina. La especificidad enzimática no varía, pero la Km es distinta. Es debido a que la prolina actúa como puente de contacto para unir en la estructura secundaria la región 233-236 con la 229-231 y esta unión se realiza por medio de puentes de hidrógeno. Sin embargo, la histidina no afecta al lugar activo de la enzima (Jones y Shaw, 1983).

Igualmente, se ha descrito un caso de polimorfismo privado para esta enzima, es el caso del alelo CA2*BAN-1, con frecuencias de 0,054 en los indios Baniwa de Brasil. Presenta una migración electroforética menor de la variante normal CA2*1 y una menor actividad enzimática, que se traduce en menor intensidad de coloración (Mohrenweiser *et al.*, 1979).

El patrón de bandas de algunas de estas variantes raras respecto de las normales se puede observar en la Figura C.23.

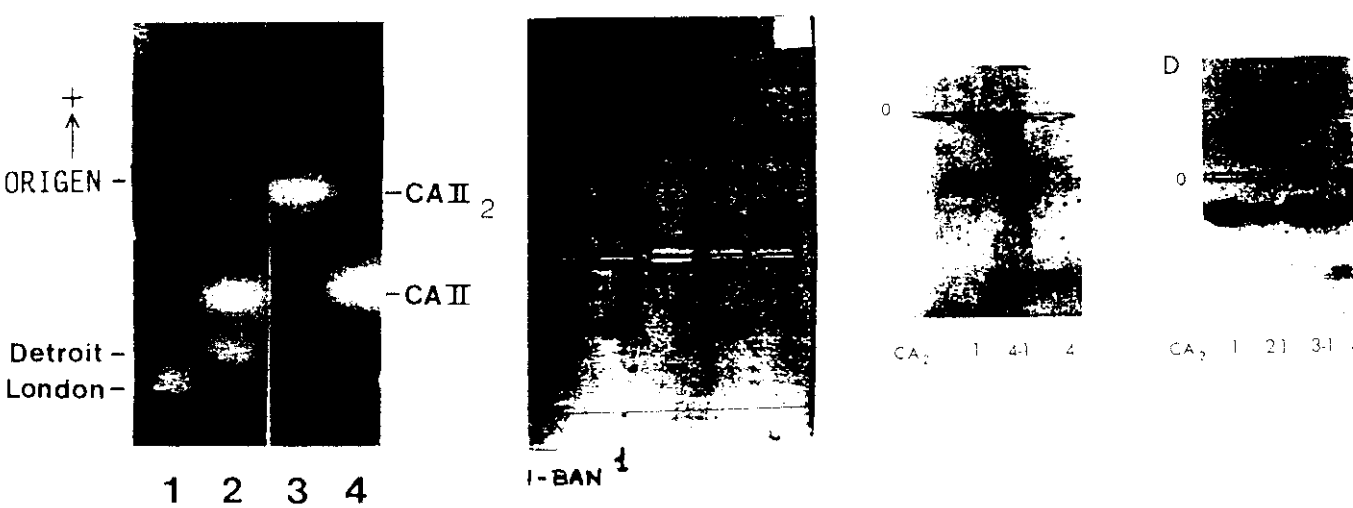


Fig. C.23.- *Patrón de bandas de algunas variantes raras de la CA2.*

C.1.5. ESTERASA D (E.C. 3.1.1.1.)

CARACTERISTICAS:

En los tejidos humanos se han identificado un gran número de diferentes ester carboxílico hidrolasas, llamadas comunmente esterasas. Estas enzimas catalizan la reacción de hidrólisis de un ester carboxílico en alcohol y ácido carboxílico.

$$R\text{-}CO\text{-}R' + H_2O \rightleftharpoons R\text{-}OH + R'\text{-}COOH$$

La mayor parte de las enzimas esterásicas tiene una actividad catalítica aparentemente no específica. Por este motivo, su diferenciación y clasificación ha sido basada no sólo, sobre la especifidad del sustrato o por el comportamiento electroforético, sino también, considerando otras características, como su distribución según los tejidos, su sensibilidad a los diversos inhibidores y su peso molecular. Las esterasas pueden ser divididas en dos clases principales: las acetil-esterasas (ESA), que tienen una preferencia por los esteres del ácido acético, con tres isoenzimas: A1, A2 y A3; y, las butiril-esterasas (ESB), que presentan una actividad máxima con los esteres del ácido butírico. Las esterasas C y D se incluyen en las acetil-esterasas pero se diferencian de estas por una serie de propiedades y, por eso, tienen una denominación diversa.

Coates *et al.*, (1975) son los primeros que han efectuado un estudio comparativo sobre las enzimas esterásicas y han visto que la complejidad de los patrones electroforéticos varía según los tejidos y la coloración empleada. En la Figura C.24. se muestran los patrones electroforéticos obtenidos de extracto de

hígado fetal y adulto, y de un hemolizado eritrocitario, con dos métodos de coloración distintos. Como se puede observar, el hígado adulto presenta un patrón más complejo.

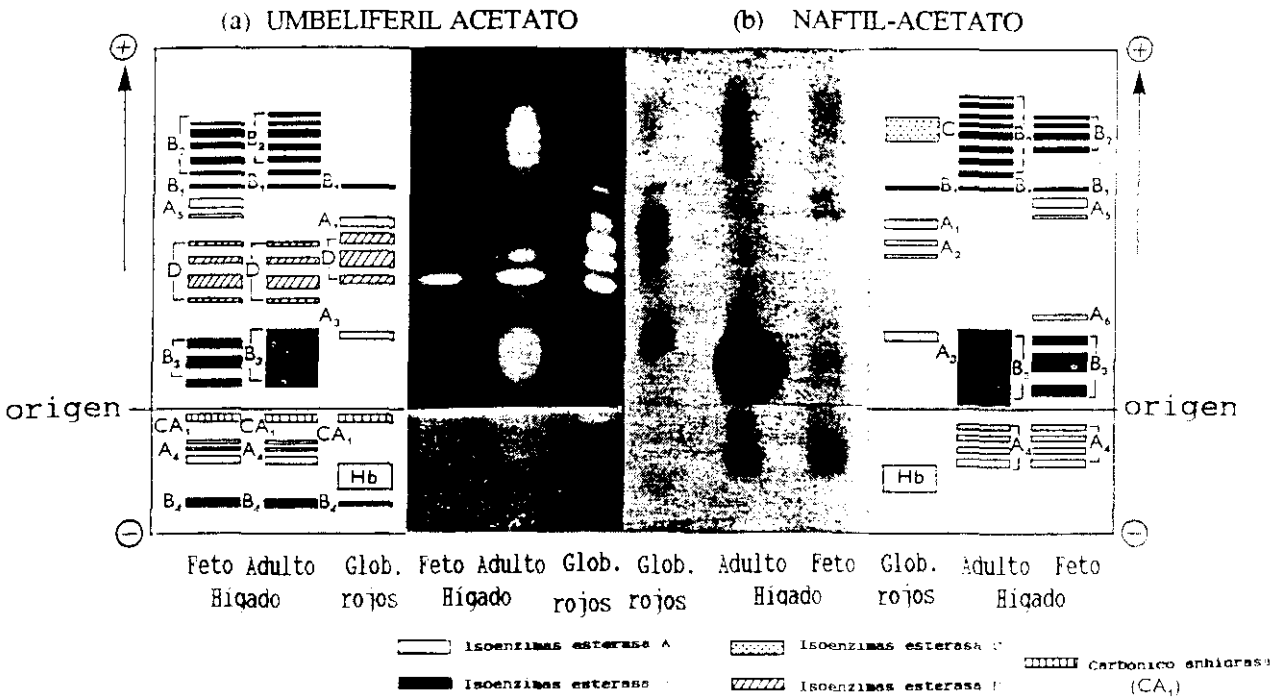


Fig. C.24.- *Fotografía de un gel de almidón y esquema del patrón electroforético llevado a cabo en tampón tris-málico a pH 7,2 de las enzimas esterásicas observadas en lisados eritrocitarios y en hígado fetal y adulto. La coloración se ha realizado con a) 4-metil-umbeliferil acetato y b) α-naftil acetato. El lisado eritrocitario es de fenotipo ESD 2-1 y las muestras de hígado son ESD 1. (Tomado de Coates et al., 1975).*

Coates *et al.*, (1975) han evidenciado que las esterasas D se distinguen del resto de las esterasas, fundamentalmente, por cuatro propiedades:

1º.- Se pueden detectar con sustratos fluorógenos derivados de la 4-metil-umbeliferona, como son el acetato y el butirato, pero no con los sustratos cromógenos o tiocolínicos como el naftol, que son válidos para el resto de las esterasas.

2º.- El pH óptimo de la ESD oscila entre 5,0 y 5,5, mientras que el resto de las esterasas presentan un pH óptimo más alcalino (6,5).

3º.- La ESD es resistente a la inhibición frente a combinaciones de fósforo inorgánico como el dietil p-nitrofenil fosfato o la acetazolamida.

4º.- De los 120 individuos examinados por Coates *et al.*, (1975) la esterasa D ha sido el único sistema de esta familia de enzimas que se presentaba electroforeticamente polimórfica. Sólo se han descrito dos variantes raras en el sistema ESA 1-3 (Tashian, 1969).

VARIANTES FENOTIPICAS Y MODELO GENETICO:

La esterasa D está ampliamente distribuida por todo el organismo y se ha detectado en todos los tejidos humanos que se han examinado, incluso en tejidos "postmorten" de adultos, tales como leucocitos, corazón, higado, bazo, riñón, pulmón, cerebro, gónadas, músculo esquelético, intestino, celulas linfoides, retina, coroides (Hopkinson *et al.*, 1973; Coates *et al.*, 1975).

El polimorfismo de la esterasa D fué descrito por primera vez por Hopkinson *et al.*, (1973), en lisados eritrocitarios, mediante electroforesis en gel de almidón a pH 6,5, usando como sustrato, fluorescente, el 4-metil-umbeliferil acetato. Se

han evidenciado 3 patrones electroforéticos distintos, denominados ESD 1, ESD 1-2 y ESD 2 (Fig. C.25.), determinados por dos alelos codominantes autosómicos: ESD*1 y ESD*2. El patrón del fenotipo ESD 1 presenta 3 bandas con movilidad anódica, con actividad decreciente en sentido anódico. También, el patrón del fenotipo 2 está caracterizado por 3 bandas con actividad decreciente en sentido anódico, aunque con mayor migración electroforética. El patrón del heterocigoto ESD 1-2 presenta tres bandas, dos de las cuales con movilidad electroforética igual a las correspondientes bandas principales de los patrones homocigóticos, y una tercera con movilidad intermedia y mayor actividad. Estos patrones sugieren que la enzima tenga una estructura dimérica, con las dos subunidades codificadas de los dos alelos ESD*1 y ESD*2.

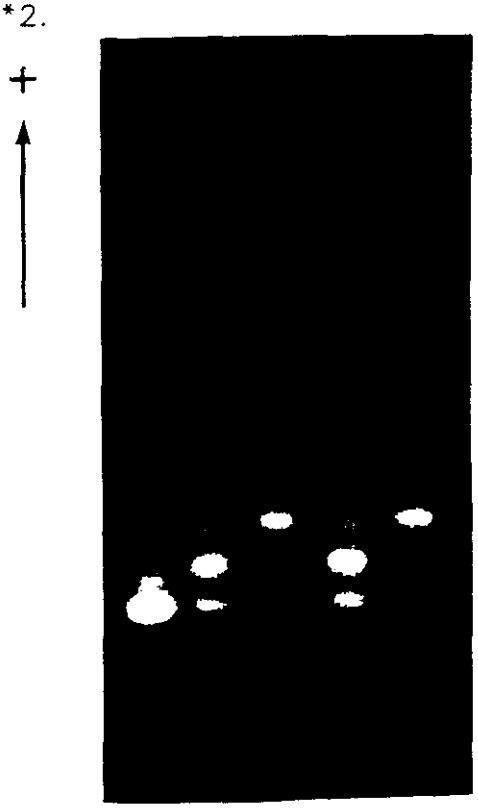


Fig. C.25.- *Patrón electroforético revelado utilizando como sustrato el metil-umbeliferil-acetato, de los tres fenotipos comunes de la esterasa D (tomado de Nishigaki et al., 1983).*

Recientemente, el empleo de técnicas electroforéticas de alto voltaje en agarosa y de isoelectroenfoque en poliacrilamida (PAGIF) en un intervalo de pH 4-5, han demostrado una heterogeneidad del fenotipo ESD 2, que se subdivide en dos proteinas distintas codificadas por dos alelos, el alelo ESD*2 y el aleio ESD*5 (Olaisen *et al.*, 1981).

Los estudios clásicos de Hopkinson *et al.*, (1973) y de Coates *et al.*, (1975) proponen que la ESD es un dímero con peso molecular de 60KDa. Young *et al.*, (1988), han presentado la secuencia completa del cDNA del gen de la ESD, que se corresponde con una cadena polipeptídica de 282 aminoácidos con peso molecular de 30KDa.

Los estudios de Van Heyningen *et al.*, (1975) asignan el locus ESD al cromosoma 13. Sucesivamente, Sparkes *et al.*, (1980) han observado en sujetos con retinoblastoma, caracterizados por la presencia de una delección o una duplicación parcial de la región q14-22 o de la q12-14 del cromosoma 13, la localización del gen ESD en la región 13q14. Los loci ESD y Rb (el locus responsable del retinoblastoma) resultan estar muy cercanos, a una distancia de cerca de 100 kb (Lee *et al.*, 1987) y, por lo tanto, estrechamente asociados (Sparkes *et al.*, 1983).

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Nishigaki *et al.*, (1983) han estudiado la actividad enzimática relativa de los tres fenotipos y su distribución, que aparecen en la Figura C.26. Se puede observar una elevada variabilidad dentro de las clases fenotípicas y que los valores medios de actividad son significativamente distintos y se pueden resumir en la relación

7:5:3.

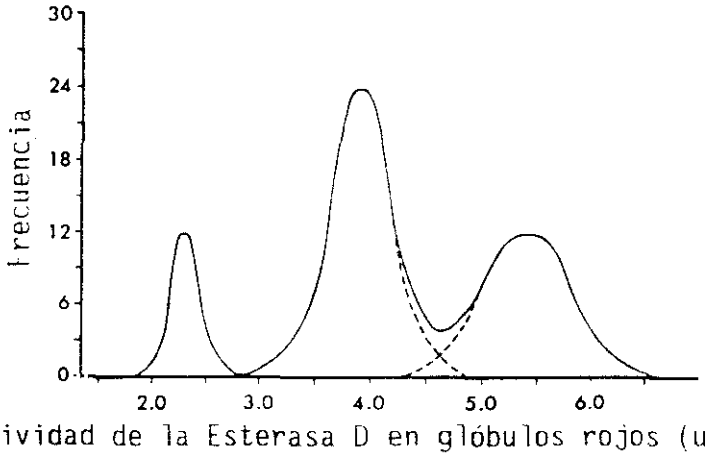


Fig. C.26.- *Distribución de los valores de actividad enzimática de la ESD en los tres fenotipos comunes (tomado de Nishigaki et al., 1983).*

Horai y Matsunaga (1984) han confirmado, parcialmente, estos resultados de Nishigaki *et al.,* (1983) obteniendo valores distintos de actividad en las tres clases fenotípicas, pero no han observado la característica distribución bimodal, encontrada por los primeros. Scott y Wright (1978) han observado un rápido descenso de la actividad esterásica "in vitro" a 25°C, y además, una mayor inestabilidad del homodímero ESD 2. Cowell *et al.,* (1986) han medido la activiad relativa de los tres fenotipos en presencia de ß-mercaptoetanol encontrando sólo menor actividad para la ESD 2 (Figura C.27.). La actividad enzimática depende, probablemente, de un grupo sulfidrilo, cuya oxidación provoca la inactivación de la enzima; la presencia de ß-mercaptoetanol impediría la oxidación, manteniendo a la enzima activa cataliticamente. La menor actividad enzimática asociada al fenotipo ESD 2 es probablemente debida a una menor afinidad de esta isoenzima por el sustrato; el hecho de no aparecer diferencias entre los fenotipos 1 y 1-2 hace suponer que las diferencias encontradas por Nishigaki *et al.,* (1983) y por

Horai y Matsunaga (1984) sean debidas a una estabilidad diferencial de las isoenzimas (Cowell *et al.*, 1986).

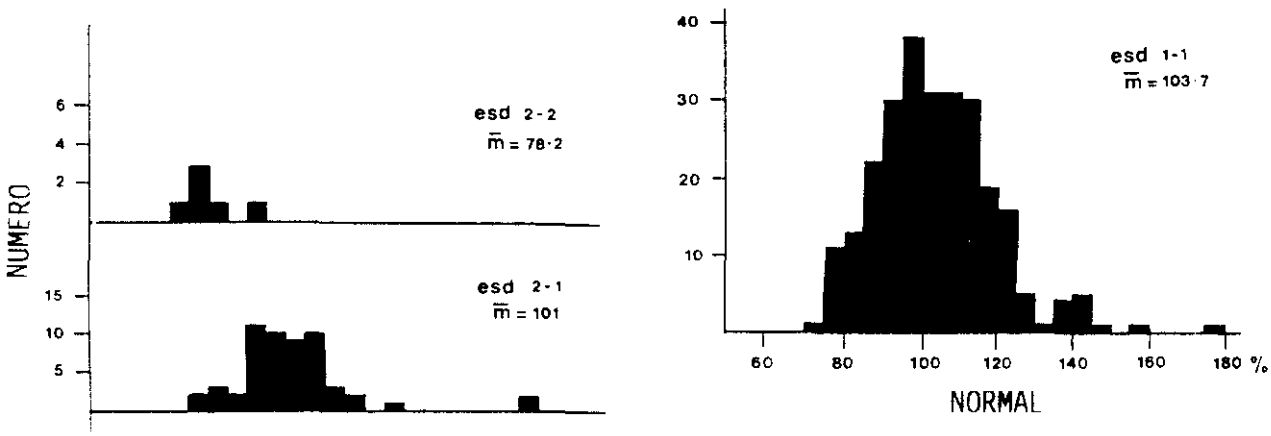


Fig. C.27.- *Distribución de los valores de actividad enzimática de la ESD en hemolizados tras el tratamiento con ß-mercaptoetanol (tomado de Cowell et al., 1986).*

No se sabe nada en relación con la función de la ESD y de su papel en el metabolismo. Al encontrarse en tejidos fetales, como por ejemplo, el higado fetal, hace suponer que su síntesis sea hepática, y que comienza antes del nacimiento, no encontrándose cambios en los niveles de actividad enzimática durante el desarrollo (Coates *et al.*, 1975).

Es importante subrayar que Apeshiotis y Bender (1986) y Eiberg y Mohr (1986) en estudios, tanto familiares como poblacionales, han demostrado que el polimorfismo de la S-formil glutation hidrolasa (FGH, E.C. 3.1.2.12), puesto en evidencia en lisados eritrocitarios por Uotila (1984) y por Board y Coggen (1986) son en efecto idénticos al polimorfismo de la ESD.

INTERES ANTROPOLOGICO:

Los alelos ESD*1 y ESD*2 presentan frecuencias polimórficas en todas las poblaciones humanas (Figura C.28.). En las poblaciones europeas y africanas el alelo ESD*2 se encuentra con las frecuencias más bajas, alrededor del 10%. Las poblaciones asiáticas presentan valores más altos, como es el caso de la India en donde se llega a alcanzar un 24%, o el Japón con el 35% (Harris y Hopkinson, 1976). En los amerindios las frecuencias están alrededor del 30%. Aborígenes australianos y melanesios muestran, en general, frecuencias bajas.

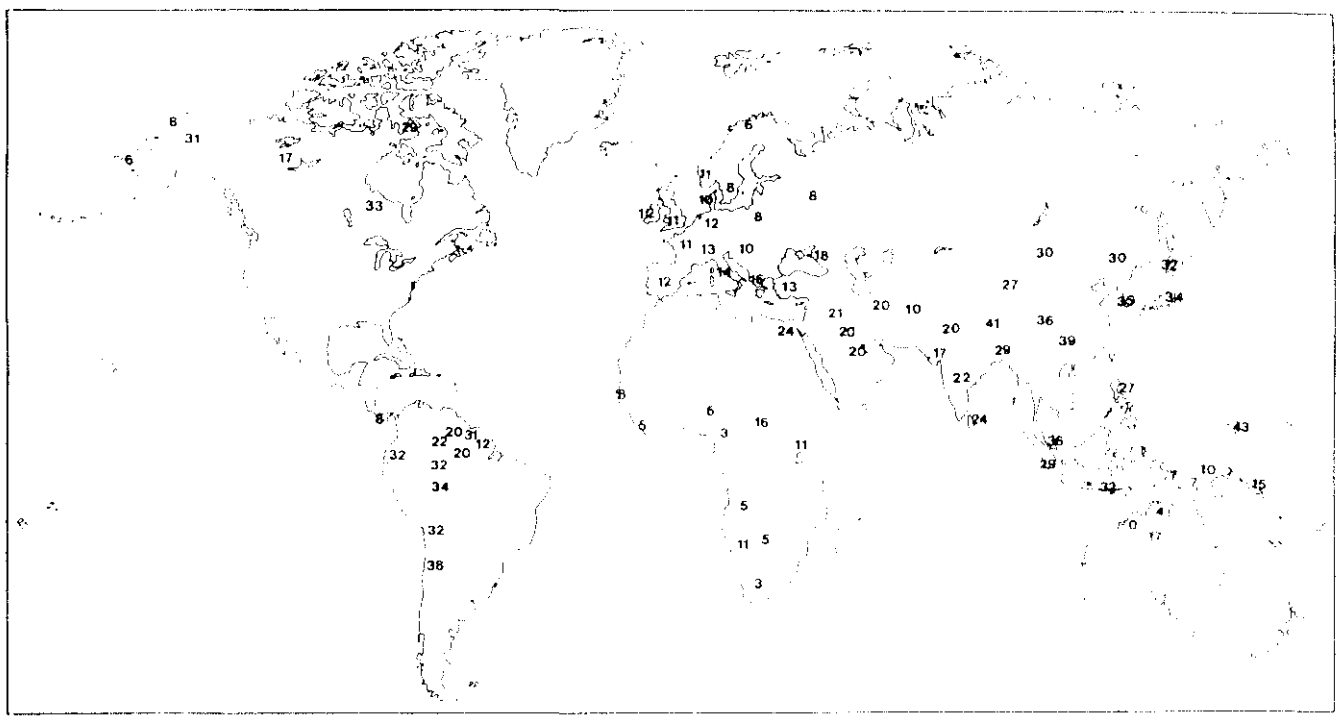


Fig. C.28.- *Distribución de las frecuencias percentuales del alelo ESD*2 en distintas poblaciones humanas (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Además, se han descrito numerosas variantes raras en poblaciones humanas. Algunas de ellas, puestas de manifiesto por isoelectroenfoque, presentan polimorfismo en ciertas poblaciones, así el alelo ESD*5 alcanza en población caucasoide frecuencias que oscilan entre 0,014 y 0,021 y el alelo ESD*7 que en población japonesa oscila entre 0,008-0,011 (Weidinger y Henke, 1988). El descubrimiento de estos alelos con frecuencias polimórficas, que sólo se pueden detectar por IEF, ha incrementado el interés de este marcador en los estudios poblacionales. En la tabla C.3. aparecen algunas variantes raras, con la población en la que han sido descritas, y en la Figura C.29. se presentan los patrones isoelectroforéticos de algunas de ellas.

Tabla C.3.- *Variantes alélicas raras del locus ESD.*

VARIANTE	*POBLACION*	*REF. BIBLIOGRAFICA*
ESD*3	Alemania	Bender y Frank, 1974; Rittner y Muller, 1975
ESD*4	Alemania	Berg *et al.*, 1976
ESD*Ma	Mamelodi	Hitzeroth *et al.*, 1976 (1)
ESD*3.1	Japón	Suzuki *et al.*, 1978 (1)
ESD*3Negrito	*Negros*	*Omoto et al.*, 1978
ESD*5	Alemania	Martin, 1979 (1)
ESD*6	Alemania	Radam *et al.*, 1980
ESD*7	Alemania	Siege y Schwehn, 1983 (1)
	Japón	Nishigaki e Itoh, 1984
ESD*Cph	Dinamarca	Dissing y Eriksen, 1984
ESD*Dusseldorf	Alemania	Henke y Baster, 1984 (1)
ESD*Yamaguchi	Japón	Yuasa *et al.*, 1985 (1)
ESD*Berlin	Alemania	Weidinger *et al.*, 1985 (1)
ESD*Kofu	Japón	Komatsu *et al.*,1985 (1)
ESD*11	Alemania	Henke *et al.*, 1986
ESD*B		Gradl *et al.*, 1986
ESD*Lisboa	Portugal	*Munier et al.*, 1988
ESD*Raleigh	Alemania	Weidinger (2)
ESD*Dus2	Alemania	Hudkenbeck *et al.*, 1988

Además se han identificado otras dos variantes alélicas raras en los indios Aymara de Chile (Ferrell *et al.*, 1980) y en los Atacameño de Chile (Goedde *et al.*, 1985), pero no se han caracterizado.
(1) Citado por Munier *et al.*, (1988)
(2) Citado por Huckenbeck *et al.*, (1988)

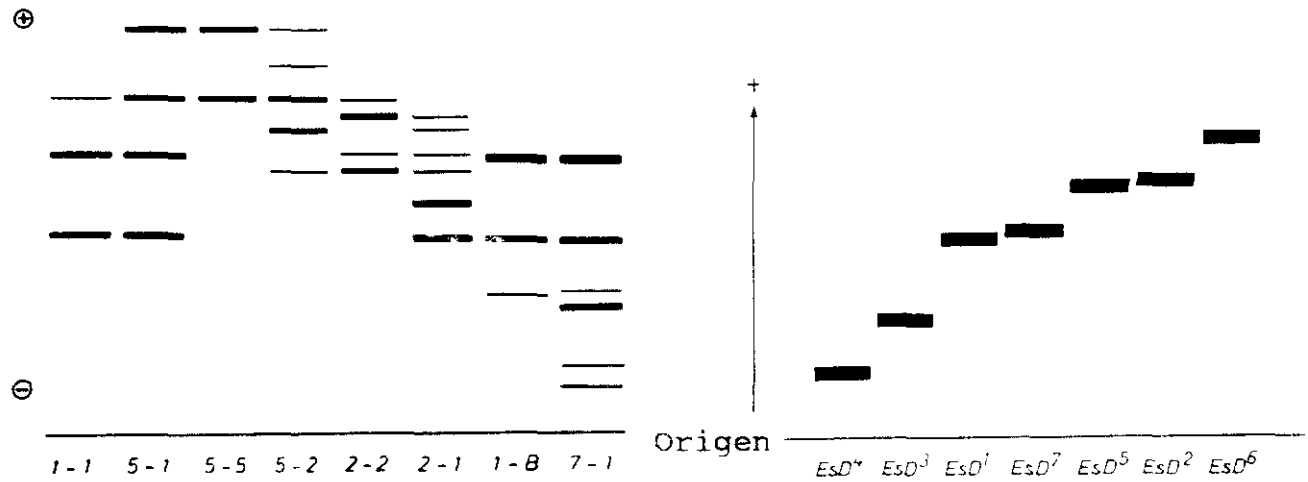


Fig. C.29.- *Patrón de bandas de algunas variantes raras de ESD por isoelectroenfoque, en un gradiente de pH 4,5-5,5 (tomado de Nishigaki e Itoh, 1984; Gradl et al., 1986).*

También, se han identificado, mediante estudios familiares, alelos "silentes", ESD*0 (Marks *et al.,* 1977; Sparkes *et al.,* 1979; Koziol y Stepien, 1980).

Respecto a la asociación de la enzima ESD con ciertas enfermedades, la más evidente, corresponde al fuerte ligamiento entre el locus de la ESD y el gen para el tumor del retinoblastoma (Rb). Cowell *et al.,* (1986) midieron la actividad "in vitro" de la ESD en pacientes con retinoblastoma y observaron que el fenotipo ESD 2 presentaba una actividad de menos del 75%, mientras que los heterocigotos y los homocigotos ESD 1, no mostraban diferencias significativas. De este modo, se considera a la ESD como un marcador informativo para el diagnostico en familias afectadas por dichas enfermedades. Recientemente, Fañanas *et al.,* (1990) observan un incremento significativo de la frecuencia de heterocigotos para la ESD en pacientes con una historia familiar de esquizofrenia, si bien son necesarios otros estudios que apoyen estos resultados.

C.1.6. GLIOXALASA I (E.C. 4.4.1.5.)

CARACTERISTICAS:

La reacción glioxalásica cataliza la transformación irreversible de metil-glioxal en ácido láctico. Esta conlleva una primera conversión de metil-glioxal en un tioester, el S-lactosil glutation catalizada por la GLO1 (lactosil glutation liasa, E.C. 4.4.1.5.) que necesita glutation reducido como cofactor, y de una posterior hidrólisis del S-lactosil glutation que forman ácido láctico y glutation reducido, catalizado por la GLO2 (lactosil glutation hidrolasa, E.C. 3.1.2.6.). (Figura C.30).

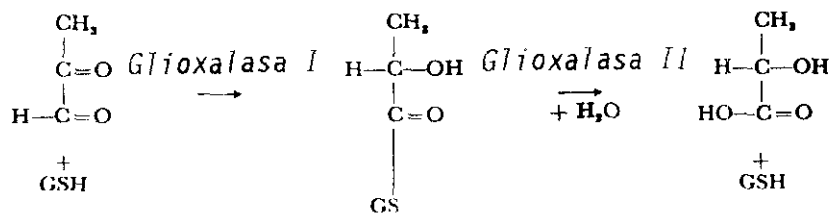


Fig. C.30.- *Reacciones catabolizadas por la GLO1 y GLO2 (tomado de Valentine y Tanaka, 1961).*

VARIANTES FENOTIPICAS Y MODELO GENETICO:

Los genes estructurales que codifican para estas dos enzimas glioxalásicas están localizados en cromosomas distintos. Bender y Grzeschik (1976) y Olaisen *et al.*, (1976) han localizado el gen de la GLO1 en el brazo corto del cromosoma 6, entre la región del HLA y el locus PGM3, en asociación con el locus de la 21-hidroxilasa, mientras que la GLO2 se ha localizado en el cromosoma 16, por Honey y Shows (1981).

La GLO2 ha resultado electroforeticamente monomórfica en poblaciones caucasoides y en las negras de Estados Unidos, y polimórfica solamente en una población de Micronesia, de la isla de Nauru (Board, 1980).

El polimorfismo de la GLO1 ha sido evidenciado por primera vez por Kömpf *et al.,* (1975) a través de electroforesis en gel de almidón a pH 7,8. Se observó la presencia de tres patrones electroforéticos comunes, el 1, 2-1 y 2, expresiones de dos alelos codominantes el GLO1*1 y el GLO1*2 (Figura C.31.)

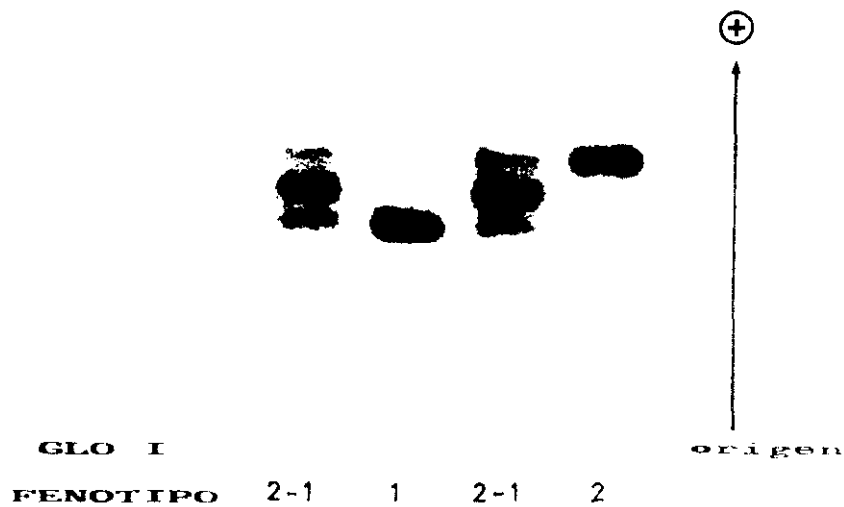


Fig. C.31.- *Patrón de bandas electroforéticas de los tres fenotipos comunes de la enzima GLO1 (tomado de Kömpf et al., 1975).*

Los patrones de ambos homocigotos presentan una sola banda que en migración anódica pertenecen, la más lenta al fenotipo GLO1 1, siendo el fenotipo GLO1 2, el más rápido. El patrón de los individuos 2-1 presenta ambas bandas junto con una tercera, intermedia, y con una actividad relativa doble respecto de los precedentes. Los tres patrones indican que la enzima es activa cataliticamente en forma de dímero.

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Actualmente no se sabe con seguridad cual es el papel fisiológico de la reacción glioxalásica, si bien, se ha encontrado en todos los tejidos. Knox (1962) ha sugerido, dado que el glioxal es una sustancia tóxica, que el complejo catabólico glioxalásico actua como desintoxicante. Szent-Gyorgi *et al.*, (1967) considerando la actividad del glioxal como inhibidor de la división celular, opinan que la acción de las dos enzimas tiene que ver con la estimulación de la división celular y del ensamblaje microtubular. También, se ha sugerido, que podría representar un estimulador fisiológico de la división celular, porque elimina el metilglioxal que es un supuesto inhibidor de dicho proceso (Riddle y Lorenz, 1973). Es interesante subrayar que, no se relacionan la deficiencia de actividad de esta enzima con efectos clínicos concretos (Valentine *et al.*, 1970).

INTERES ANTROPOLOGICO:

Los alelos GLO1*1 y GLO1*2 aparecen, practicamente, en todas las poblaciones con frecuencias polimórficas. El alelo GLO1*2 muestra las frecuencias más altas en la mayoría de las poblaciones examinadas y en la Figura C.32. está representada la distribución mundial de las mismas.

En poblaciones europeas su frecuencia es ligeramente superior de la del alelo GLO1*1 (cerca del 56%) mientras que resulta mucho más alta en poblaciones africanas y orientales. Las frecuencias más altas corresponden a Australia y poblaciones del Pacífico, en donde se alcanzan valores del 90% al 100% (Busi *et al.*, 1979; Mc Loughlin *et al.*, 1982; Spedini *et al.*, 1982; Weissman, 1983).

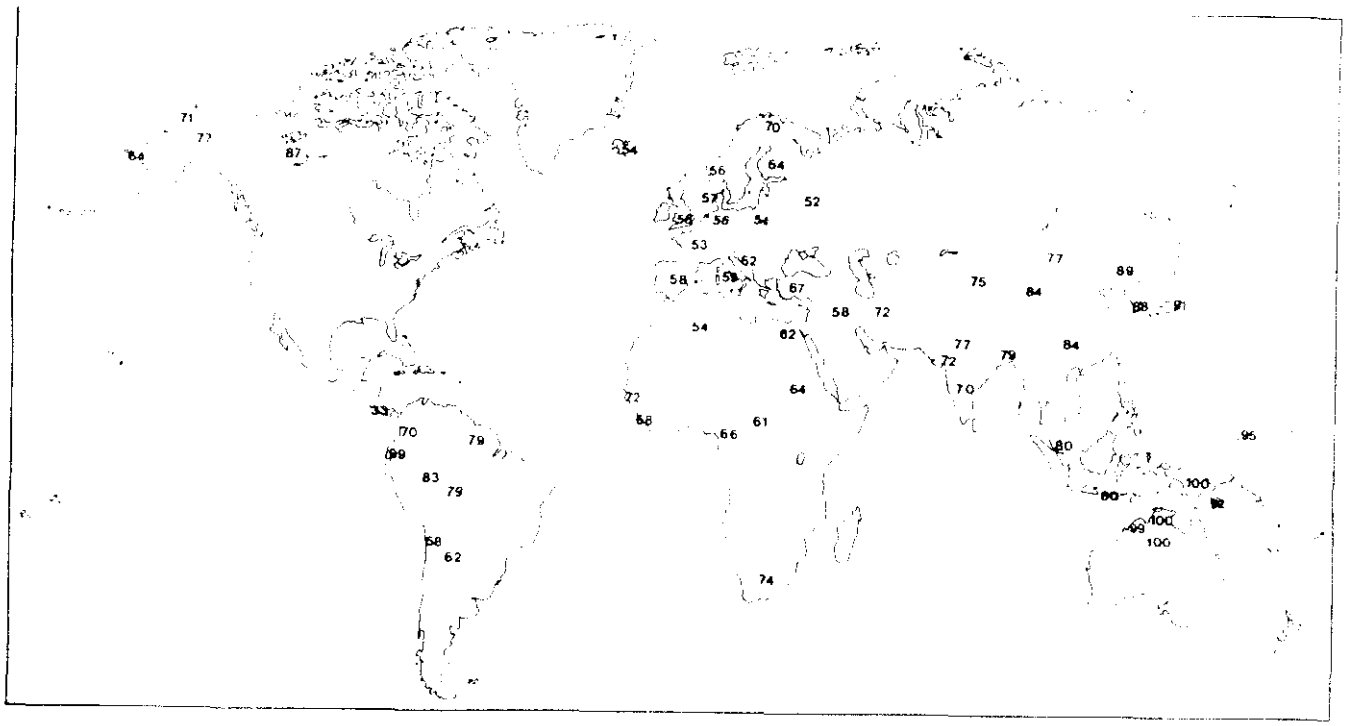


Fig. C.32.- *Frecuencias porcentuales del alelo GLO1*2 en el mundo (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Se han encontrado una serie de alelos raros, que se resumen en la tabla C.4., y en la Figura C.33. se da su patrón de bandas electroforéticas en relación a las variantes normales.

Tabla C.4.- *Variantes raras de la enzima GLO1*

VARIANTE	*POBLACION*	*REF. BIBLIOGRAFICA*
GLO1*3	Italia	Ranzani *et al.*, 1979
GLO1*Sic	Sicilia, Italia	Beretta *et al.*, 1983
GLO1*4	Costa de Marfil	Arnaud *et al.*, 1988
GLO1*5	Bwa, Mali	Arnaud *et al.*, 1988

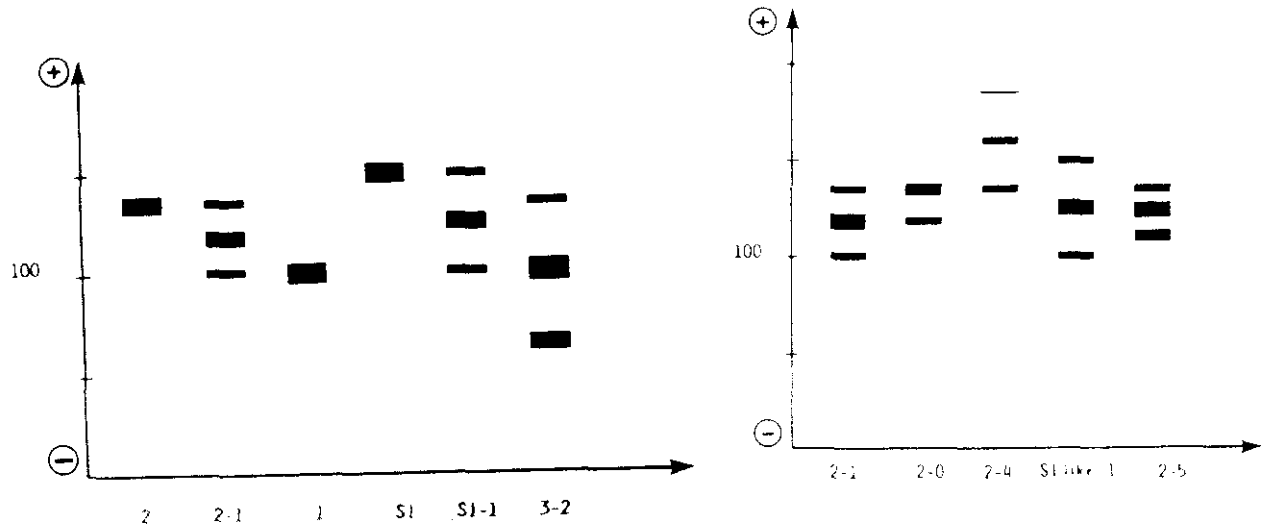


Fig. C.33.- *Patrón de bandas de las variantes raras de la GLO1 en relación con los alelos normales.*

También para la GLO1 se han identificado alelos silentes, con disminución de la actividad glioxalásica. Arnaud *et al.*, (1988) han descrito dos individuos con fenotipo 2-0 que muestran dos bandas, la de migración anódica rápida que caracteriza al patrón del fenotipo 2 y la de migración intermedia del fenotipo 2-1 pero con menor actividad.

Kavathas y De Mars (1981) han identificado un individuo heterocigoto 2-0 que presentaba una sola banda débil con migración anódica veloz. En este caso, el alelo silente codifica para una subunidad que determina, al menos en eritrocitos y linfocitos, una ausencia de actividad enzimática. La ausencia de la banda de migración intermedia es debida muy probablemente a una gran inestabilidad del heterodímero.

C.1.7. GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA (E.C. 1.1.1.49.)

CARACTERISTICAS:

El estudio de la G6PD empieza hace siglo y medio, aunque fué descrita por primera vez en el año 1931, por Warburg y Christian, con el nombre de "fermento intermedio", en levadura de cerveza y en globulos rojos humanos. Se encuentra en todos los organismos y en todos los tejidos, porque lleva a cabo un papel fundamental en el metabolismo intracelular. Es la primera enzima en el ciclo de las pentosas, catalizando el paso de glucosa-6-fosfato a 6-fosfo-lactona (Figura C.34.).

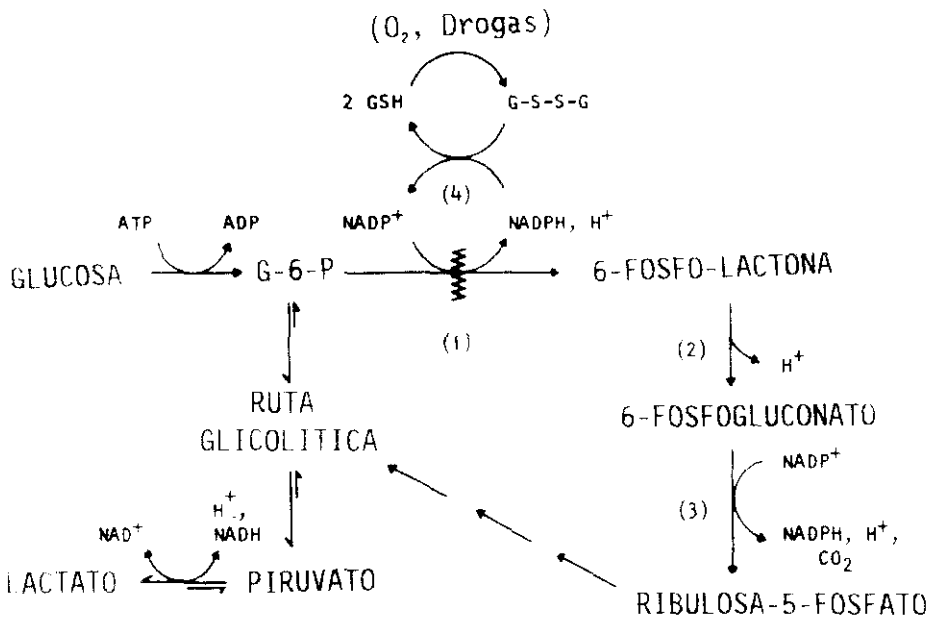


Fig. C.34.- *Rutas metabólicas relacionadas con la deficiencia de la G6PD. Los peróxidos y la enzima glutation peroxidasa contribuyen a la oxidación de GSH, especialmente con la actuación de ciertas drogas (Tomado de Kirkman, 1971).*

La G6PD es una enzima oligomérica, formada por un dímero o un tetrámero, cuyas subunidades son idénticas (Yoshida, 1968). Está formada por 515 aminoácidos con un peso molecular de 62487 D. Cada subunidad contiene 11 restos aminoacídicos de cisteina que son importantes en la actividad catalítica, ya que inhibidores de tales grupos, como son el hidroxi-mercurio benzoato y el N-etimaleimida, provocan una inhibición de la enzima (Luzzatto y Afolayan, 1968)

En eritrocitos humanos el $NADP^+$ estabiliza la forma oligomérica de la enzima y no existe en forma monomérica. Como el pH en estas células es de 7,2, próximo al punto de transición del equilibrio entre la forma dímera y tetrámera, se cree que tales formas están en cantidades similares (Bonsignore *et al.*, 1971; Kirkman, 1971; Babalola *et al.*, 1976).

VARIANTES FENOTIPICAS, MODELO GENETICO Y ACTIVIDAD ENZIMATICA:

Desde la época de los griegos se observó que ciertas personas estaban hipersensibilizadas a las habas e incluso al polen de dicha planta. Este fenómeno, caracterizado por ictericia y hemolisis, se denominó favismo. A mediados del presente siglo, se observaron estos mismos síntomas en individuos negros, que presentaban hipersensibilidad a fármacos antimaláricos del tipo de la pamaquina y primaquina. Estudiando ambos casos, se comprobó un descenso del glutation reducido (GSH) en los hematíes de estas personas sensibilizadas, producido por una disminución de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Flatz y Xirotiris, 1980). Posteriormente, se ha visto que otras drogas antimaláricas (como la pentaquina), sulfonamidas (como la sulfopiridina y sulfanilamida), y agentes antibacterianos (como la nitrofurantoina), provocan crisis hemolítica cuando existe

deficiencia para la G6PD (Betke *et al.*, 1967).

Cuando se estudiaron los niveles de actividad enzimática, en población negra, se observaron diferencias en el sexo. Así, en la Figura C.35. se puede observar cómo en los varones existe una distribución bimodal, mientras que en las mujeres hay una amplia gama de valores (Harris, 1975).

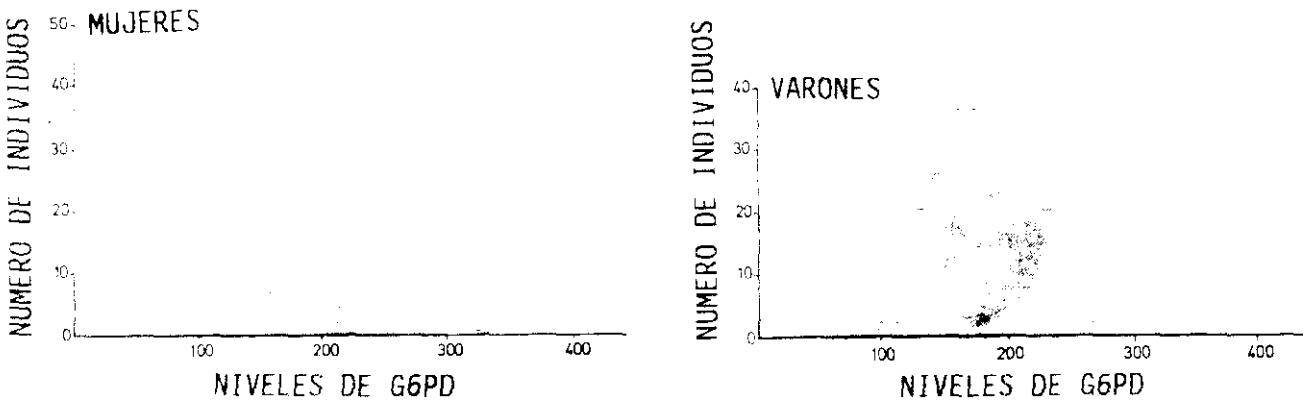


Fig. C.35.- *Distribución de los niveles de actividad de la G6PD en 235 varones y 284 mujeres de Nigeria (tomado de Harris, 1975).*

Dichas diferencias se pudieron explicar cuando, en 1958, Childs *et al.*, descubrieron que el gen responsable de la carencia de la G6PD se localiza en el cromosoma X. Los varones pueden tener presente el alelo normal o el mutante, que causa la defiencia, pero no ambos, dando lugar a dos genotipos hemicigóticos. En las mujeres, sin embargo, al tener dos cromosomas X, pueden existir tres genotipos distintos y una amplia gama de actividades enzimáticas. Esto es debido a que existe gran variabilidad de expresión del gen carencial G6PD en las mujeres

heterocigotas, la cual se ajustaría a la hipótesis explicada por M. Lyon (1961), relativa a la inactivación de un cromosoma X en las células somáticas de las mujeres. Davidson *et al.,* (1963) estudiaron la G6PD a nivel celular para comprobar la existencia de dicho fenómeno de la lyonización. De acuerdo con esta hipótesis, en cada célula somática de mamífero existe un cromosoma X activo y un cromosoma X inactivo; por ello los productos de los genes presentes en el cromosoma X no aparecen en cantidad doble en las hembras respecto a los machos. Davidson *et al.,* (1963) observaron clones de fibroblastos humanos de heterocigotos expresaban solamente uno de los alelos G6PD.

También se ha utilizado la G6PD para ver la activación del cromosoma X durante la maduración de los oocitos y de su inactivación en la vida embrionaria (Luzzatto y Battistuzzi, 1988).

Además, Kirkman y Hendrickson (1963) observaron que la actividad enzimática normal presentaba dos tipos electroforéticos, con una velocidad de migración de tipo B (lenta, que se define como 100%) y de tipo A (rápida, con movilidad relativa de 110%). En las poblaciones negras los portadores del defecto enzimático presentaban una actividad reducida (que es del 10-20% respecto a la normal) y movilidad de tipo A, denominándose a esta variante G6PD*A-. En las poblaciones caucasoides se encuentra, casi exclusivamente, el tipo B, y en poblaciones mediterráneas la variedad carencial (con una actividad del 5%) exhibía las propiedades del tipo B, por lo que se designa como G6PD*B- o tipo mediterráneo. En la Figura C.36. aparece un diagrama con el patrón de bandas electroforéticas de las variantes más frecuentes, tanto en varones como en mujeres.

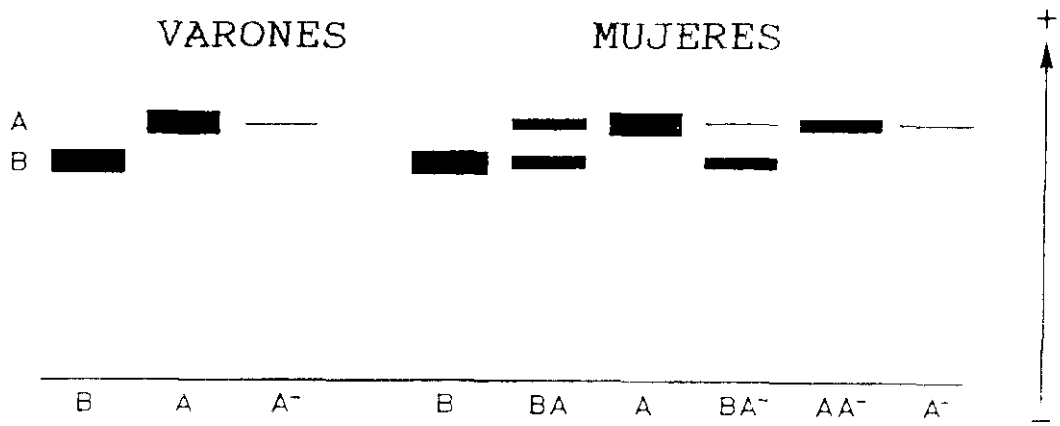


Fig. C.36.- *Patrón de bandas electroforéticas de los distintos fenotipos observados en población de raza negra, en varones y en mujeres (tomado de Harris, 1975).*

Además de los viejos criterios de distinción de las variantes G6PD, como era la movilidad electroforética y la actividad catalítica, se han añadido otra serie de parámetros físico-químicos como por ejemplo, la Km G6P, Km NADP, Ki NADPH, la dependencia de la Vmáx, del pH, la estabilidad de la enzima al calor y al porcentaje de utilización de análogos de sustratos. Estos métodos posteriores han revelado una gran heterogeneidad dentro del grupo de variantes con actividad y movilidad electroforética similar.

Bernstein (1980) ha encontrado dentro de los tres tipos G6PD B, A y A- muchas variantes que difieren en la termostabilidad. Modiano *et al.,* (1979) estudiando la máxima actividad de la G6PD A y B, en madres e hijos, han

detectado dos variantes G6PD*B, la B1 y B2, y dos variantes G6PD*A, la A1 y A2.

Dada la complejidad de esta enzima, en 1967 el grupo de estudio WHO (Betke *et al.,* 1967) ha propuesto métodos de análisis estandarizados para la tipificación de variantes G6PD. Estos métodos han permitido descubrir más de 300 variantes G6PD distintas y, junto con la hemoglobina, es la proteína humana de la cual se han descrito mayor número de tipos, tanto comunes como raros.

Las variantes G6PD se clasifican según:

a) su frecuencia, es decir, si son polimórficas o no,

b) la manifestación clínica,

c) el nivel de G6PD en los eritrocitos.

Respecto a la manifestación clínica y el nivel de G6PD, Beutler (1983) las clasifica en cinco clases:

I. Variantes con déficit enzimático grave, asociado con anemia hemolílica crónica no esferocítica (CNSHD),

II. Variantes con déficit enzimático grave, inferior al 10%, sin CNSHD, con formas de anemia hemolítica aguda (AHA),

III. Variantes con déficit enzimático leve o moderado, con actividad entre 10-60% del normal que no se asocian, generalmente, a patología clínica,

IV. Variantes que no presentan déficit enzimático, con actividad normal, entre 60-150%,

V. Variantes que presentan un aumento de la actividad enzimática.

El conjunto de las más de 300 variantes enzimáticas, han sido tabuladas por Yoshida, Beutler y Motulsky (1971); Beutler y Yoshida (1973); Yoshida y Beutler

(1978; 1983). En la tabla C.5. aparece el número de variantes descritas según su frecuencia y comportamiento electroforético para las distintas clases.

Tabla C.5.- *Resumen de las variantes G6PD (tomado de Luzzatto y Metha, 1989)*

	Polimorficas		*Movilidad electroforética*				
Clase	*Numero*	*%*	*Rapida*	*Normal*	*Lenta*	*Movilidad %*	*Total*
I	1	1	20	30	32	63	82
II	49	45	29	39	41	64	109
III	22	30	25	13	36	82	74
IV	14	32	15	2	26	95	43
V	-		2	-		100	2
Total	86	28	91	84	135	73	310

El locus del gen G6PD, usando híbridos celulares somáticos con varias traslocaciones X-autosómicas, se ha localizado en la región telomérica del brazo largo del cromosoma X, en la banda Xq28, distal a la región frágil Xq 27.3, responsable de una forma de retraso mental. En la Figura C.37. aparece el esquema del gen de la G6PD, que tiene 18 Kb y consta de 13 exones y 12 intrones, variando las dimensiones de los exones codificantes, entre 12 y 236 pb. El RNAm del gen de la G6PD es de 2269 nucleótidos (Martini *et al.*, 1986; Vulliamy *et al.*, 1992).

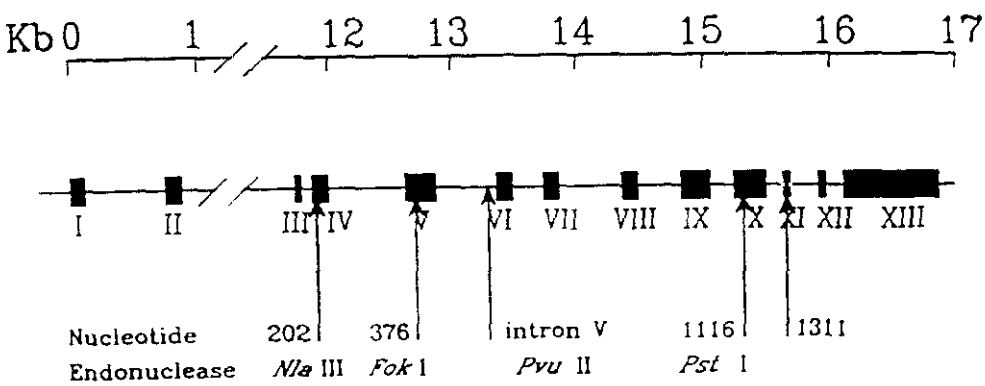


Fig. C.37.- *Organización del gen de la G6PD, con los 13 exones en negro y 12 intrones en blanco (tomado de Kay et al., 1992).*

Vulliamy *et al.,* (1988) han estudiado el gen de la G6PD, observando que las distintas variantes son provocadas por mutaciones puntiformes en distintos exones. En la tabla C.6., aparecen estas variantes más frecuentes, con algunas de sus características moleculares.

Tabla C.6.- *Características bioquímicas y moleculares de algunas de las variantes de la G6PD (tomado de Vulliamy et al., (1988).*

Variante G6PD	*Expresión clínica*	*Actividad enzimática % del normal*	*Movilidad electroforética % del normal*	*Posición mutación*	*Cambio Base*	*Cambio Aminoácido*
B	Normal	100	100	-	-	-
A	Normal	84	110	376	A--G	Asn--Asp
A-	AHA	10-23	110	202	G--A	Val--Met
				376	A--G	Asn--Asp
B-	AHA	0-7	100	563	C--T	Ser--Phe

AHA: Anemia Hemolítica Aguda

En la Figura C.38. aparecen las mutaciones que dan lugar a algunas de las variantes G6PD más estudiadas y frecuentes en poblaciones.

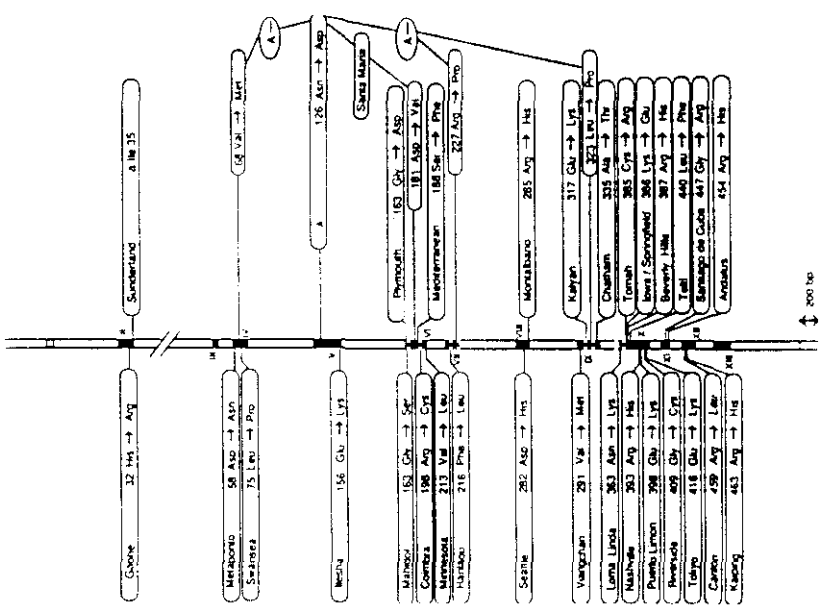


Fig. C.38.- *Mutaciones puntiformes del gen G6PD que provocan variantes. Los números romanos indican los exones (tomado de Vulliamy et al., 1992).*

INTERES ANTROPOLOGICO:

VARIANTES POLIMORFICAS SIN DEFICIT ENZIMATICO:

Dentro de las numerosas variantes G6PD polimórficas, con una actividad igual o similar a la G6PD B, solamente tres de ellas están muy difundidas:

1.- El alelo G6PD*B se ha encontrado en todo el mundo y es indistinguible de la G6PD del chimpancé y de gorila (Lucotte y Ruffie, 1982).

2.- La G6PD*A es muy común en poblaciones de Africa, con frecuencias que varian de unos lugares a otros, desde el 0 al 40% (Bernstein *et al.*, 1980).

3.- La G6PD*Karthoum se encuentra en el noreste africano y en Arabia, con frecuencias que oscilan alrededor del 1% (Bayoumi *et al.*, 1979; Saha *et al.*, 1983).

Las otras variantes encontradas son locales, o características de una población concreta, o de poblaciones, que habitan en un área geográfica limitada. Así, por ejemplo, Reys *et al.*, (1970) en población Bantú de Mozambique, además de los tipos comunes B, A y A-, han detectado las variantes, con actividad normal, G6PD*Lourenzo Marques, G6PD*Inhambene y G6PD*Manjacaze.

VARIANTES POLIMORFICAS CON DEFICIT ENZIMATICO:

AREA MEDITERRANEA: Estudios anteriores al 1960 pusieron de manifiesto que, en el área del Mediterráneo, existía una variante G6PD con actividad baja y movilidad electroforética del 100% respecto de la G6PD*B. La frecuencia más alta se ha encontrado en Grecia continental e insular, apareciendo un gradiente hacia el oeste: Italia y España (excluida Cerdeña), norte: Bulgaria y Rumanía, este: Turquía y Líbano, y hacia el sur: Egipto y Argelia. En un principio se pensó que se

trataba de un modelo de difusión simple, pero al realizar estudios con más detalle, se identificaron en estos paises muchas variantes.

Por ejemplo, en Grecia, además de la G6PD Mediterránea, existen las variantes G6PD*Athenas-like, G6PD*Orchomenos y G6PD*Union-Markham, todas ellas caracterizadas, igualmente, por una deficiencia enzimática y movilidad del 100%, aunque con un distinto pH de actividad óptima y función enzimática con diferentes análogos del sustrato. Como se puede observar en la Figura C.39., existe gran heterogeneidad de variantes en las distintas poblaciones mediterráneas.

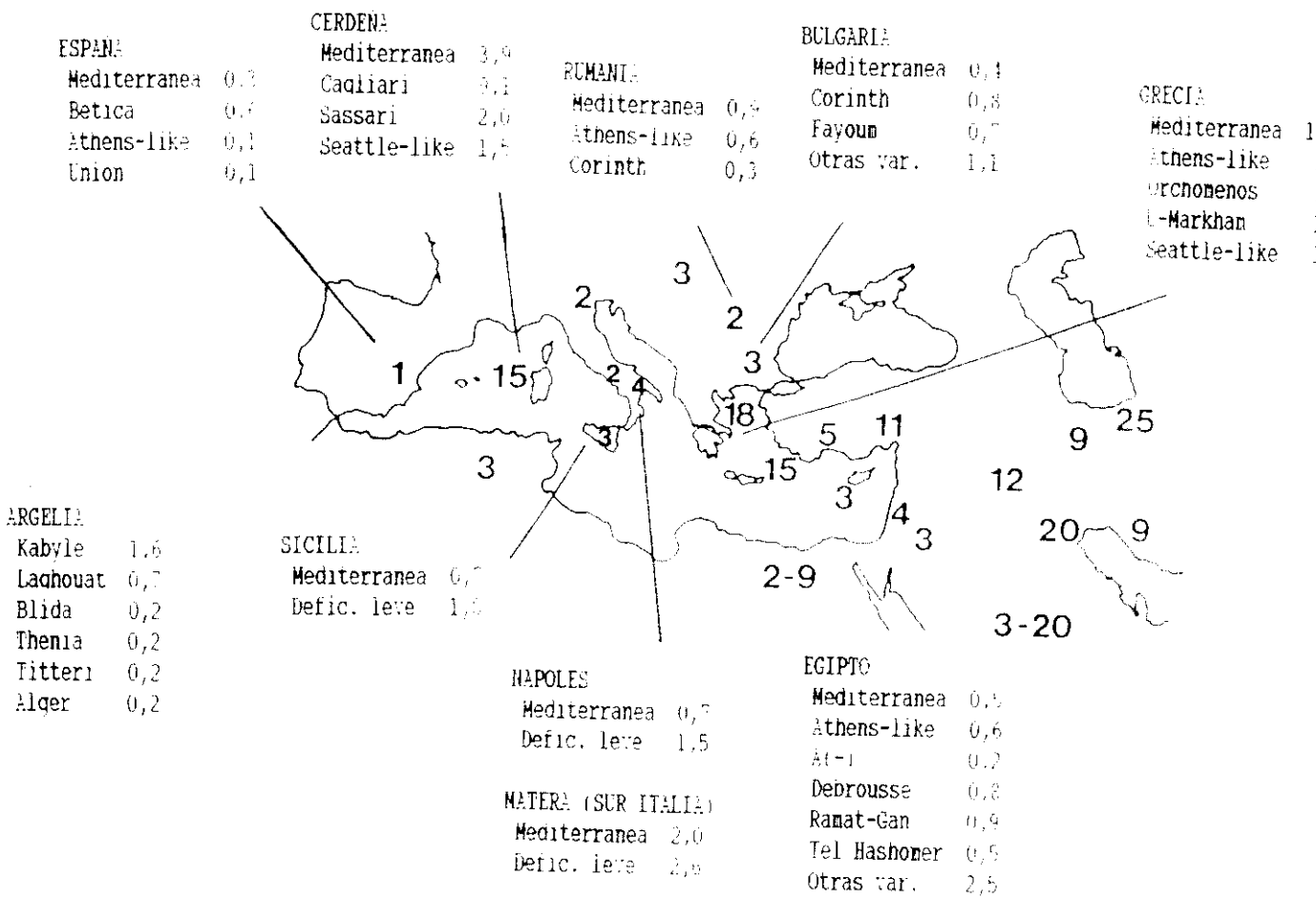


Fig. C.39. *Mapa de la región Mediterránea y del Próximo Oriente, con el polimorfismo de la G6PD (adaptado de Luzzatto y Battistuzzi, 1988; Rickards et al., 1988; Calabrò et al., 1990).*

Esta considerable "fragmentación" de la variante Mediterránea es incompatible con el modelo de difusión y se habla de dos grupos de variantes (Luzzatto y Battistuzzi, 1988). Por una parte, la mediterránea B- y las tres descritas anteriormente en Grecia, muy similares en sus características electroforéticas, que podrían ser el resultado de la radiación desde Grecia y del desplazamiento de esta civilización hacia el este y oeste del país. Por otro lado, las restantes variantes tendrían un origen autóctono en los distintos lugares donde se han identificado.

También, existen estas variantes en el Norte de Africa: en Egipto, por ejemplo, la G6PD*Mediterránea es relativamente abundante (0,5%), mientras que no existe en Argelia. Quizás sea debido a las costumbres endógamas de estas poblaciones del norte de Africa, que han diferenciado entre sí a las poblaciones en mayor grado que en el Sur de Europa (Luzzatto y Battistuzzi, 1988).

Por último, es conveniente destacar, que también se pueden examinar recientes migraciones en el Mediterráneo, a través del análisis de la G6PD. Por ejemplo, la deficiencia de G6PD descrita en Francia es el resultado de desplazamientos de individuos procedentes del Norte de Africa y del Sur de Italia, o por ejemplo, la deficiencia de la G6PD observada en las ciudades industriales del Norte de Italia (1%), son el resultado de migraciones recientes desde el Sur de este país y desde Cerdeña.

AFRICA SUDSAHARIANA: En Africa el déficit es debido sobre todo a la variante llamada G6PD*A-, que se presenta en la mayor parte de los grupos, con una frecuencia que varía en función del área geográfica, más que respecto al grupo étnico (Luzzatto, 1973).

Sin embargo, existe gran heterogeneidad genética, apareciendo otras variantes deficitarias. Por ejemplo, en Nigeria sólo se ha encontrado G6PD*A-, en cambio, en Mozambique se ha identificado una variante rara con frecuencias menores del 0,1%. También, se han detectado en poblaciones de Mali y Senegal otra variante rara, la G6PD*Mali con frecuencia del 12,5% y del 4,5%, respectivamente; otros tipos son la G6PD*Dakar, con un 3%, y la G6PD*Matam, con un 2%, también en Senegal. Estas variantes presentan actividad del 1-5% y movilidad electroforética normal por lo que se la considera de fenotipo G6PD deficitario.

Además, Kahn *et al.,* (1973) han encontrado el tipo G6PD B- en poblaciones que viven al sur del Sáhara, así en Sudán con frecuencias del 3% (Saha *et al.,* 1983), Chad con el 7%, Ghana con el 10% (Owusu y Opere-Hanta, 1972), en Mali el 10% y en el grupo Bedik del Senegal con el 1% (Bouloux *et al.*, 1972). Estos datos se han interpretado considerando un flujo génico proveniente de las poblaciones árabes, en donde el tipo G6PD B- está bien representado.

También, hay que destacar las frecuencias apreciables de variante G6PD*A en poblaciones del norte del Sáhara, como son un 5% en la Península del Sinaí, 2,4% en Egipto y 16,4% en Libia, y entre el 9 y 12% en Mali y Algeria. Sin embargo, la G6PD*A-, practicamente, no ha sido descrita en estas poblaciones, lo cual ha dado origen a la hipótesis de si la variante G6PG*A es la misma en el norte y sur del Sáhara (Luzzatto y Battistuzzi, 1988).

En el área del Pacífico, son numerosos los estudios que se han realizado, poniendo en evidencia la existencia de muchas variantes difundidas entre las zonas, que se mezclan, evidenciando un flujo génico bidireccional entre las poblaciones

(Luzzatto y Battistuzzi, 1988).

En las Figuras C.40. y C.41. aparece la distribución mundial de los alelos deficitarios GD*A- y GD*B-.

Fig. C.40.- *Distribución porcentual del alelo G6PD*A- en distintas poblaciones humanas (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

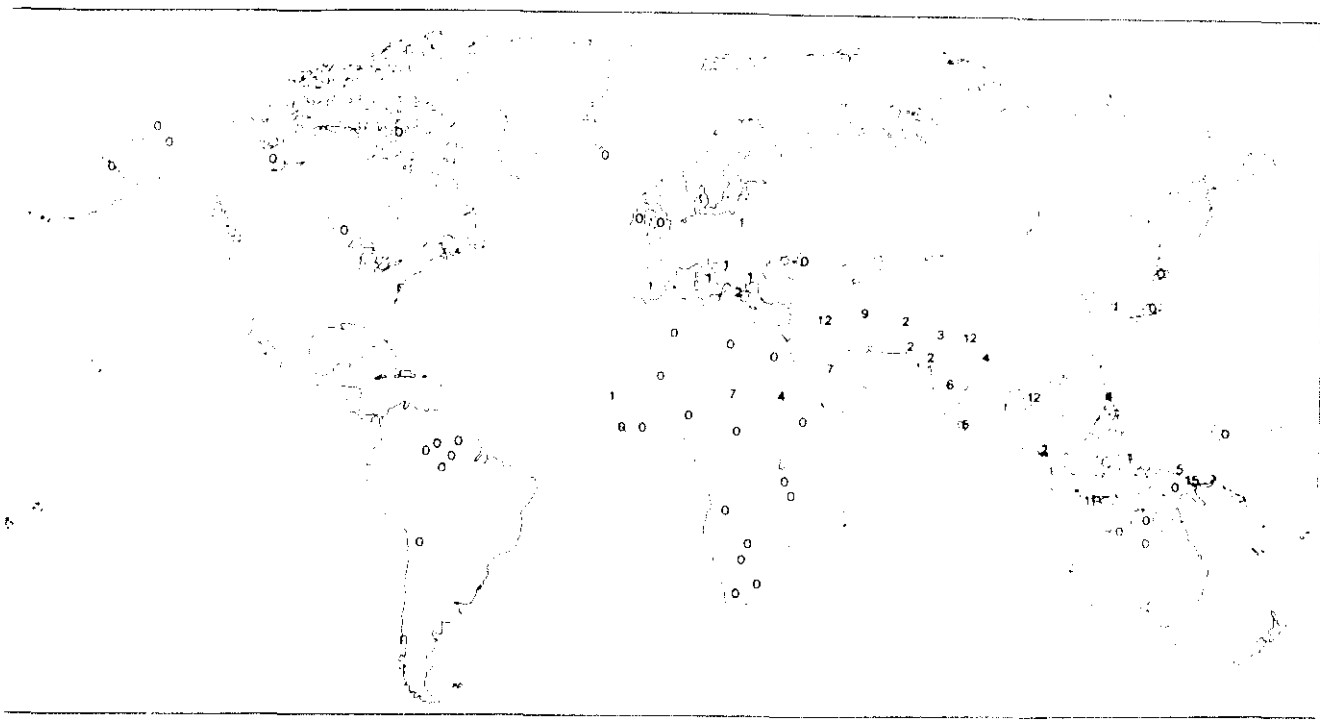


Fig. C.41.- *Distribución porcentual del alelo G6PD*B- en distintas poblaciones humanas (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

G6PD Y LA SELECCION NATURAL.

El polimorfismo de la G6PD es uno de los casos que muestra cómo la selección natural puede actuar a través de la relación entre dicho polimorfismo y una enfermedad grave, como es la malaria, en concreto, la provocada por *Plasmodium falciparum*, y confiere un notable valor adaptativo. La malaria se consideraba, hasta hace poco tiempo, una enfermedad endémica de zonas tropicales, ecuatoriales y subtropicales, cubriendo una gran franja de la especie humana. Italia y Grecia son los paises del Mediterráneo más afectados por la malaria.

Se ha observado que, para algunos genes (G6PD-, Thalasemia y HBß*S) existe una correlación positiva entre la frecuencia y la intensidad de la endemia malárica expresada en términos de altitud, por lo que se han llamado genes maláricos.

En el caso concreto de la G6PD, se trata de un polimorfismo balanceado. El mecanismo que lo mantiene no ha sido totalmente explicado, parece ser que se trate de una ventaja de los heterocigotos. Se cree que en el momento de la invasión por *Plasmodium falciparum* no existen alteraciones, al menos, así lo han manifestado cultivos "in vitro". Parece que la deficiencia de la G6PD dificulta el desarrollo intracelular del parásito, porque se crea un ambiente oxidativo, al estar en menor concentración el glutation reducido (GSH) que es imprescindible para el crecimiento de *Plasmodium falciparum*. El hecho, de que sólo las mujeres heterocigotas estén favorecidas, y no los homocigotos o hemicigotos, se debe a que en las primeras se crea un mosaico de glóbulos rojos deficitarios para la G6PD y no deficitarios. En el caso de los individuos deficitarios, todas sus células son iguales, pudiendo el parásito, en pocos ciclos, adaptarse a tal tipo de huésped. Sin embargo, en los heterocigotos, dicha adaptación no existe, porque deben pasar por ambos tipos de células (Luzzatto y Metha, 1989).

Esta teoría es apoyada por el hecho de que no existe zona polimórfica para la G6PD que no haya sido endémica para la malaria, pero dicha endemia no provoca la aparición del polimorfismo G6PD, solo lo mantiene, y favorece su difusión en el interior de dicha zona.

Otra prueba, a favor de la hipótesis de la ventaja selectiva de los heterocigotos, es que en el interior de una población que presenta una relativa

homogeneidad genética, la variabilidad de la frecuencia G6PD deficitaria es generalmente más alta que la de otros genes y que tal frecuencia se ha encontrado correlacionada con el grado de exposición a la malaria. Además, al valorar cuantitativamente la gravedad de la infección malárica en mujeres G6PD+/G6PD- es significativamente más baja que la de mujeres o varones de grupos control.

Inicialmente, Luzzatto (1974), en experimentos efectuados en cultivos de eritrocitos con defecto G6PD, observó un grado normal de infección. Sin embargo, Friedman (1979) vió más tarde que el parásito infecta normalmente los eritrocitos con el alelo G6PD*A- en condiciones normales, pero no en condiciones de stress oxidativo, con altas presiones de O_2, o de menadione o riboflavina. Luzzatto (1980) al repetir el experimento con eritrocitos portadores del alelo mediterráneo, ha observado crecimiento diferencial en condiciones normales, porque el parásito no consigue un desarrollo intrecelular. Este desarrollo reducido del parásito en varones G6PD- y mujeres G6PD+/G6PD- también ha sido observado por Roth *et al.*, (1983).

C.1.8. FOSFO-GLUCONATO DESHIDROGENASA (E.C. 1.1.1.44)

CARACTERISTICAS:

La 6-P-gluconato deshidrogenasa (D-glucosa-1-P-fosfotransferasa) cataliza la descarboxilación y la deshidrogenación del ácido 6-P-glucónico a D-ribulosa-5-P con la reducción simultanea del NADP a NADPH. El mecanismo de formación de la ribulosa-5-P implica la oxidación del grupo alcohólico en el C3, seguida de la descarboxilación del 3-oxi-6-fosfogluconato resultante que no se ha observado jamás como producto intermedio. La PGD del higado está fuertemente inhibida por el NADPH, por lo que a concentraciones fisiológicas de este último se bloquea el flujo de la via de las pentosas-fosfato. La enzima se desbloquea cuando el NADPH es utilizado en otras vías metabólicas, como por ejemplo, en la síntesis de los ácidos grasos (Cuzzocrea *et al.*, 1984).

VARIANTES FENOTIPICAS Y PROPIEDADES:

Fildes y Parr (1963) han demostrado en el hombre la existencia de variantes isoenzimáticas controladas geneticamente. Así, observaron en hemolizados, a través de electroforesis en gel de almidón a pH 7,0, tres distintos patrones debidos a la presencia de dos alelos codominantes el PGD*A y el PGD*B o PGD*C, ya que existen dos nomenclaturas, una que utiliza las letras A y B (Bowman *et al.*, 1966; Gordon *et al.*, 1967) y la otra A y C (Davidson, 1967; Parr y Fitch, 1967), siendo esta última la más aceptada (Figura C.42.).

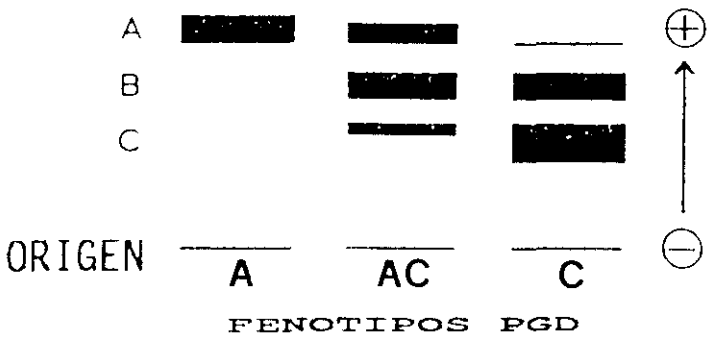


Fig. C.42.- *Patrón de bandas de los tres fenotipos de la enzima PGD (adaptado de Gordon et al., 1967).*

El patrón del fenotipo A, el más común, consiste en una sola componente isoenzimática, que migra anodicamente. Una incubación prolongada a 37°C permite la identificación de una segunda componente a migración anódica, más veloz y específica de los glóbulos rojos, una tercera componente, más lenta respecto a la principal, aparece después de una prolongada incubación con NADP añadido al almidón. El segundo patrón, típico del fenotipo AC, se caracteriza por tres componentes isoenzimáticas, la principal del fenotipo A y otras dos de migración más lenta, una cuarta componente aparece, también en este caso, después de un largo periodo de incubación a 37°C. El patrón del fenotipo C presenta, también, tres componentes isoenzimáticas que caracterizan el patrón de los heterocigotos, pero tienen una actividad decreciente en sentido anódico. Los patrones encontrados en otras células distintas de los eritrocitos, son más simples y simétricos. En efecto, los fenotipos A y C de los linfocitos presentan bandas

simples, más rápida para el A y más lenta para el C, mientras que el fenotipo AC presenta tres bandas, dos iguales a las de los fenotipos A y C y una tercera de migración intermedia (Figura C.43.).

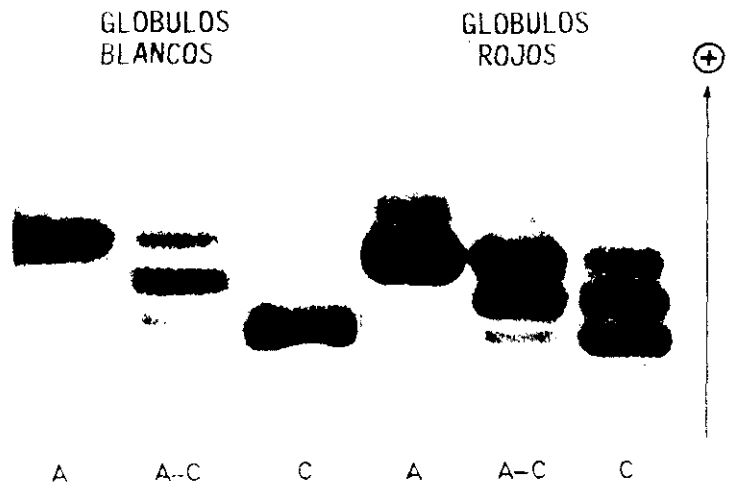


Fig. C.43.- *Patrón de bandas de la enzima PGD en eritrocitos y leucocitos (tomado de Harris y Hopkinson, 1976).*

La heterogeneidad del fenotipo C, al comparar eritrocitos y leucocitos no ha sido definitivamente establecida, y se ha sugerido que podría ser debida a la interacción de la enzima con NADP-hidrolasas del estroma, las cuales modificarían su estructura y actividad (Ajmar *et al.*, 1968).

La enzima es activa como dímero, y las dos subunidades comunes, que tienen un peso molecular de 40.000 daltons cada una, son codificadas por los dos alelos: PGD*A y PGD*C.

Los estudios efectuados por isoelectroenfoque no han evidenciado nuevos alelos o subtipos de los ya existentes, para esta enzima.

Westerveld y Meera Khan (1972) estudiando el linkage, y Douglas *et al.*, (1973) usando híbridos de células somáticas, han localizado el locus que codifica la PGD en el cromosoma 1.

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Parr (1966) ha observado que el fenotipo A presenta, generalmente, el nivel más alto de actividad deshidrogenásica mientras que el C es más bajo (alrededor del 70-90% del A). Las distintas isoenzimas muestran un distinto comportamiento en presencia de urea e isoacetato. La desnaturalización por urea determina una mínima disminución de la actividad enzimática del fenotipo A (cerca del 35% del normal) mientras que tiene un máximo efecto sobre la componente isoenzimática del PGD C, para la que se observa una actividad del 5%. En el fenotipo AC aparece un comportamiento intermedio, con una disminución de la actividad enzimática del 70%. Algo similar ocurre al tratar con isoacetato. La reducción de la actividad es del 20% para el A, 50% para el AC y del 80% para el C (Giblett, 1969).

Parr y Fith (1967) han decrito variantes fenotípicas raras caracterizadas por una actividad reducida (PGD Ilford, PGD Newham, PGD Whitechapel y PGD Dalston). La variante PGD Ilford presenta un patrón electroforético igual al del fenotipo A, pero con una menor actividad enzimática (cerca del 50%) tanto en eritrocitos como en linfocitos. La variante PGD Newham (encontrada en miembros de la familia en la cual se había detectado la otra variante descrita) presenta un patrón electroforético similar al del fenotipo C pero con actividad reducida al 50%. Ambas variantes son debidas a la condición de heterocigosis de dos alelos

comunes con un alelo silente.

La variante PGD Whitechapel no muestra a nivel electroforético ninguna componente isoenzimática y el análisis de los niveles de actividad muestran valores muy bajos (cerca del 1,1-3% del normal).

Parr y Fitch (1967) han encontrado una forma llamada PGD Dalston que presenta las componentes isoenzimáticas de los fenotipos comunes pero con un valor de actividad del 75%. Este déficit es más leve que el Whitechapel y está ausente en los linfocitos.

Ambas variantes han permitido la identificación de un nuevo alelo, silente sólo en eritrocitos, llamado PGD*W.

Como resultado, el alelo silente que en heterocigosis con PGD*A y PGD*C da los fenotipos PGD Ilford y PGD Newham, presenta una mutación que determina, probablemente, una terminación anticipada de la traducción y, por lo tanto, las isoenzimas presentes en los dos heterocigotos resultan ser homodímeros denominados *Sa* o *Sc*.

El alelo PGD*W codifica, sin embargo, para la subunidad Sw, que hace inestable a los isoenzimas, pero que presenta la misma movilidad electroforética que los homodímeros *Sa*.

Es importante destacar que algunas variantes fenotípicas muestran la reversibilidad de los patrones electroforéticos tras el tratamiento con NADP o ß-mercaptoetanol. Así, el genotipo PGD A-Friendship, descrita por Davidson (1967), presenta tres bandas, una de las cuales es muy débil. El patrón electroforético de los linfocitos muestra una única banda de migración anódica, mayor respecto de la que caracteriza el patrón del A. Al añadir NADP en el gel de almidón (a

concentracion baja de 5 10^{-6} M), se alteran ambos patrones electroforéticos y se observa sólo la banda con movilidad típica del fenotipo A.

INTERES ANTROPOLOGICO:

El alelo PGD*A es el más frecuente en todas las poblaciones humanas. El alelo PGD*C en europeos presenta frecuencias entre el 0 y 5%, en los africanos alcanza el 17%, aunque con muchas variaciones, ya que, incluso en algunas poblaciones de Africa Central no se ha encontrado. En poblaciones asiáticas presenta valores muy heterogéneos, la mayoría inferiores al 10%, la máxima frecuencia se ha encontrado en Bhutan (India, 24%). Este alelo PGD*C no se ha encontrado en muchas poblaciones amerindias de America del Sur (Harris y Hopkinson, 1976) (Figura C.44.)

Fig. C.44.- *Distribución de las frecuencias porcentuales del alelo PGD*C en el mundo (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Además de las variantes que alteran la actividad enzimática, y que ya se han descrito en el apartado anterior, se han descubierto otras que presentan distinta movilidad electroforética. En la tabla C.7. aparecen algunas de las variantes raras identificadas hasta el momento y, en la Figura C.45., el patrón electroforético de algunas de ellas.

Se ha observado que el patrón de bandas de las variantes PGD A-Natal, PGD A-N'Ko y PGD C-Natal, tras tratamiento con ß-mercaptoetanol se transforman en PGD A los dos primeros y en PGD AC la tercera.

Tabla C.7.- *Variantes alélicas raras de la enzima PGD.*

VARIANTE	*REF. BIBLIOGRAFICA*
PGD*Richmond	Parr, 1966 (1)
PGD*Hackney	Parr, 1966 (1)
PGD*Friendship	Davidson, 1967
PGD*Thailand	Tuchinda *etal.*, 1968 (2)
PGD*Elcho	Blake y Kirk, 1969
PGD*Freiburg	Tarivedian *et al.*, 1970 (2)
PGD*Singapore	Blake *et al.*, 1973 (2)
PGD*Kadar	Saha *et al.*, 1974
PGD*Wantoat	Blake *et al.*, 1974
PGD*Camberra	Blake *et al.*, 1974
PGD*Oshakati	Jenkins y Nurse, 1974
PGD*Caspian	Blake *et al.*, 1974
PGD*Bombay	Blake *et al.*, 1974
PGD*Natal	Blake *et al.*, 1974
PGD*HIR1	Satoh *et al.*, 1977
PGD*HIR2	Satoh *et al.*, 1977
PGD*NGS1	Satoh *et al.*, 1977
PGD*Aymara	Ferrell *et al.*, 1977
PGD*Waltair	Naidu *et al.*, 1985
PGD*Corea	Benkmann *et al.*, 1986
PGD*Lombok	Sofro y Kirk, 1986
PGD*Ndongue	Destro Bisol y Battaggia, 1988
PGD*N'Ko	Destro Bisol y Battaggia, 1988
PGD*Rome	Destro Bisol y Battaggia, 1988
PGD*Duisburg	Weidinger y Scwarzfisher, 1988
PGD*Mediterranean	Nervo, 1989

(1) citado por Giblett, (1969)
(2) citado por Blake *et al.*, 1974)

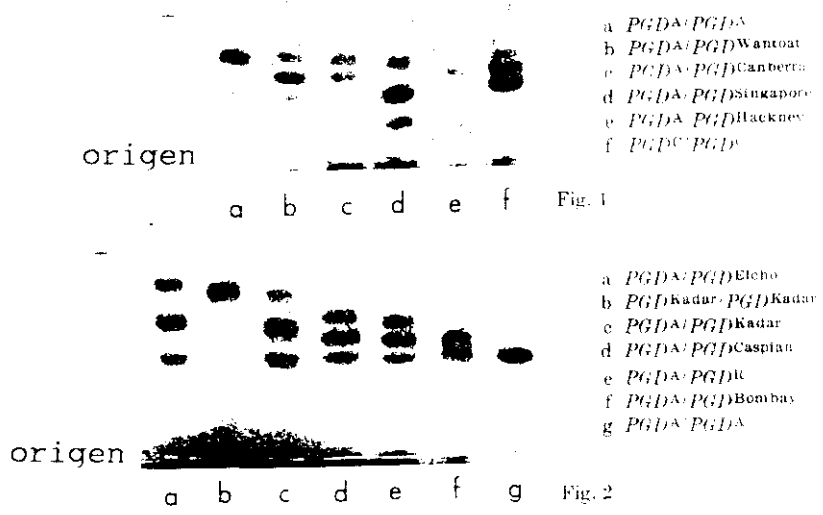


Fig. C.45.- *Patrón de bandas electroforéticas de algunas de las variantes raras de la PGD (tomado de Blake et al., 1974).*

Algunas de las variantes raras presentan frecuencia polimórfica en ciertas poblaciones. Es el caso de la PGD*Elcho que, en algunos grupos de aborígenes australianos alcanza frecuencias del 1-2% (Blake *et al.,* 1974), o el alelo PGD*Kadar con una frecuencia de cerca del 4% en un grupo tribal de la India Meridional (Saha *et al.,* 1974).

Desde el punto de vista clínico, se han descrito algunos ejemplos de deficiencia parcial de 6-PGD asociados a anemia hemolítica (Beckman, 1978).

C.1.9 FOSFO-GLUCO-MUTASA 1 Y 2 (E.C. 2.7.5.1.)

CARACTERISTICAS:

La *fosfoglucomutasa* (*α*-D-glucosa 1,6 difosfato fosfotransferasa) es una enzima que pertenece a las transferasas. Tiene un papel importante en el metabolismo glucídico porque cataliza la transferencia de un grupo fosfato entre la posición C1 y C6 de la glucosa. Al haberse encontrado de dos formas distintas, fosfato y difosfato, se dedujo que la reacción tiene lugar en dos tiempos: en un primer lugar la fosforilación de las transferasas en un residuo serínico por medio de la glucosa 1,6 difosfato (cofactor que se une covalentemente a la enzima) con la liberación de glucosa 1P; sucesivamente la enzima cede su grupo fosfato a la glucosa 6P formando glucosa 1,6 diP (Cuzzocrea *et al.*, 1984). La reacción es reversible, como se puede observar en la Figura C.46.

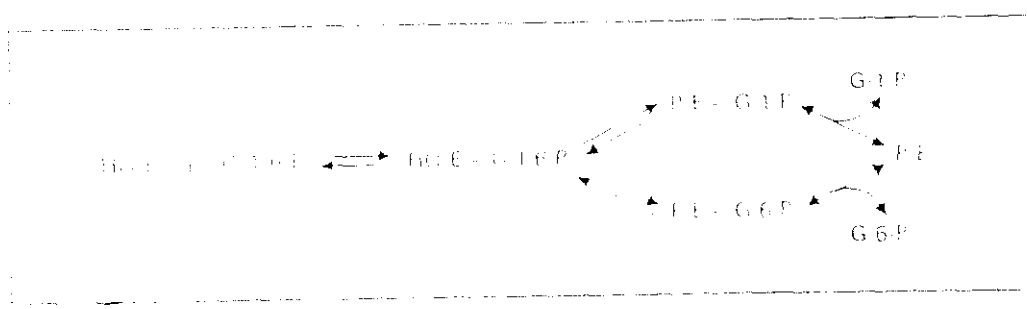


Fig. C.46.- *Esquema de la reacción catalizada por la fosfoglucomutasa (tomado de Cuzzocrea et al., 1984).*

Esta enzima está caracterizada por distintas formas moleculares codificadas por tres loci autosómicos no asociados: PGM1, PGM2 y PGM3 (Harris y Hopkinson, 1976). Las isoenzimas PGM1 se descubrieron en los eritrocitos, y se ha visto, que

están presentes en otros tejidos y órganos, como el hígado, riñón, músculos, cerebro y placenta, en algunos de los cuales, la actividad fosfotrasferásica es mayor que la encontrada en los eritrocitos. La PGM2 se localiza en glóbulos rojos y otros tejidos somáticos, existiendo diferencias histoespecíficas en su actividad. La PGM3 sólo se ha detectado en leucocitos y en placenta. Cada locus determina una serie de 2 ó 3 isoenzimas diferenciables a través de electroforesis en gel de almidón (pH 7,4) a causa de una movilidad anódica decreciente PGM3 > PGM2 > PGM1. Existe evidencia de otro loci, el PGM4 que se expresa solamente en leche humana. Drago *et al.,* (1991) al hacer reaccionar las enzimas PGM1, PGM2, PGM3 y PGM4 con anticuerpos monoclonales ha observado diferencias, ya que la fracción IgG del antisuero reacciona con la PGM1 y con menor especificidad con la PGM4, pero no con las PGM2 y PGM3, lo cual indica que tienen sitios antigénicos distintos.

Según Mc Alpine *et al.,* (1970) los pesos moleculares de las isoenzimas PGM varían según su origen. La PGM1 varía su Pm entre 50000 y 52000 (Becker, 1980), la PGM2 entre 58000 y 62300 y la PGM3 de 52000 a 53600. La PGM1 es un pentapéptido en el que la Serina constituye el grupo de unión al fosfato, siendo este aminoácido esencial para la actividad enzimática. Si el grupo OH de la Ser se esterifica por el fosfofluorhidrato de disopropilo (DFP) la enzima es inactiva. Otros inhibidores son el 2,3 Pglicerato, fructosa 1,6 diP, glicerato 3-P, ATP, citrato y el fosfoenolpiruvato (Becker, 1980).

La determinación de la actividad fosfoglucomutásica ha puesto en evidencia que más del 80% de ésta se atribuye a los productos del locus PGM1, y la restante en gran parte, al locus PGM2. Los componentes isoenzimáticos del locus PGM2

pueden ser diferenciados de los de los otros loci porque tienen actividad fosforibomutásica (Harris y Hopkinson, 1976). Los loci PGM1 y PGM3 han resultado por el análisis electroforético polimórficos en todas las poblaciones humanas, mientras que el locus PGM2 solo ha resultado ser polimórfico en algunas poblaciones africanas del Surinam (Santachiara-Benerecetti *et al.*, 1969; Geerdink *et al.*, 1974).

Estos tres loci génicos se han localizado en cromosomas diversos, el locus PGM1 en el cromosoma 1 en la zona 1p22 y 1p31 (Nguyen *et al.*, 1971; Douglas *et al.*, 1973). El gen del locus PGM1 no excede las 34 kb, con una alta frecuencia de recombinación (Whitehouse *et al.*, 1992). La secuencia de bases del RNAm se ha observado que son similares a las del conejo. El locus PGM2 en el cromosoma 4 en la zona 4p12 (Mc Alpine *et al.*, 1975), y el locus PGM3 en el cromosoma 6 (Jongsman *et al.*, 1973) en la banda 6q12 (Suzuki *et al.*, 1986).

VARIANTES FENOTIPICAS DEL LOCUS PGM1:

La presencia de alelos comunes para el locus PGM1 fué decrito por primera vez por Spencer *et al.*, (1964a) a través de electroforésis en gel de almidón (a pH 7,4) en una muetra de población inglesa. Idnetificaron tres fenotipos comunes que denominaron 1, 2 y 1-2 (Figura C.47).

Ambos fenotipos 1 y 2 presentan dos componentes isoenzimáticas de distinta movilidad electroforética: las bandas *a* y *c* para el fenotipo 1, y las *b* y *d* para el fenotipo 2. El heterocigoto posee las cuatro bandas: *a, b, c,* y *d* (en orden creciente de movilidad anódica). En todos los fenotipos se encuentran otras bandas de movilidad anódica más veloces, llamadas *e, f* y *g*, que corresponden a los

productos del locus PGM2. El polimorfismo es debido a la presencia de dos alelos comunes codominantes y autosómicos, denominados PGM1*1 y PGM1*2. La ausencia de bandas exclusivas en el patrón electroforético del fenotipo 2-1 indica que cada enzima es un monómero.

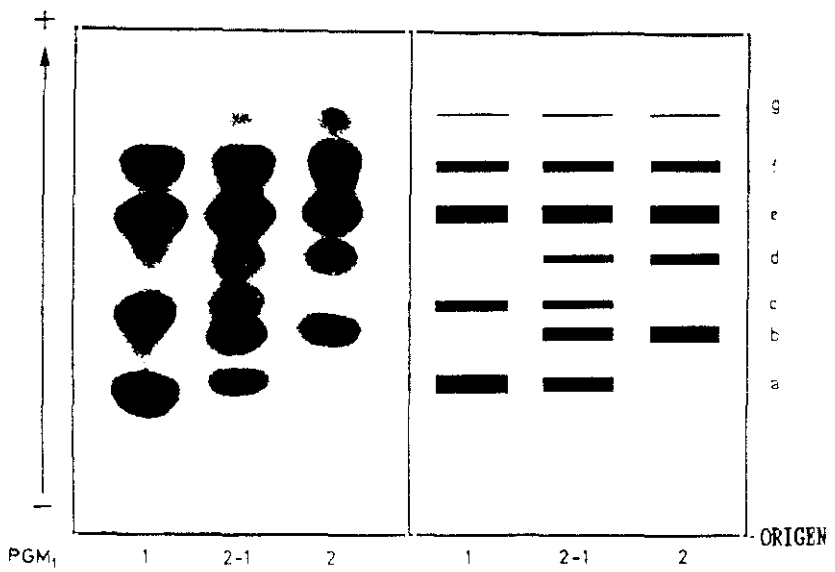


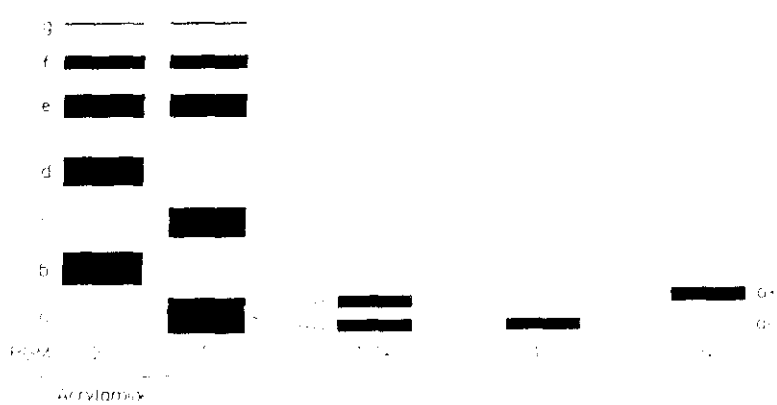
Fig. C.47.- *Los isoenzimas de la fosfoglucomutasa eritrocitaria en los tres fenotipos comunes PGM1 1, PGM1 1-2 y PGM1 2 (Tomado de Harris, 1975).*

Los resultados al comparar patrones electroforéticos en glóbulos rojos de edades distintas, sugiere que las cantidades relativas de isoenzimas controladas por un alelo simple varían con la distinta edad media de la población celular de la que provienen, la actividad de las isoenzimas más catódicas de cada complejo parece que sea mayor en poblaciones celulares más jóvenes y relativamente más inmaduras. Esto sugiere que la isoenzima más catódica de cada grupo puede ser la forma primaria sintetizada en la célula, mientras que las más anódicas pueden ser derivadas del primero seguido de modificaciones estructurales secundarias de

la proteína (Harris, 1975).

En 1976, Bark *et al.*, por medio de la técnica del isoelectroenfoque sobre gel de poliacrilamida (PAGIF) en un rango de pH 5-7, han revelado la existencia de patrones más complejos que no pueden ser identificados a través de electroforesis convencionales. Las componentes isoenzimáticas electroforéticas *a, b, c,* y *d* se han resuelto respectivamente como las isoenzimas *a+* y *a-*, *b+* y *b-*, *c+* y *c-* y *d+* y *d-* (Sutton, 1979) determinados por cuatro alelos: PGM1*a1, PGM1*a2, PGM1*a3 y PGM1*a4 (según la nomenclatura propuesta por Kühnl y Spielmann, 1978), denominados también, PGM1*1+, PGM1*2+, PGM1*1- y PGM1*2- (según Bark *et al.*, 1976), o bien, PGM1*1f, PGM1*2f, PGM1*1s y PGM1*2s (según Bissbort et al., 1978).

En las Figuras C.48, C.49, C.50 y C.51. se muestran las bandas que resultan a través de PAGIF, relativas a las componentes isoenzimáticas electroforéticas *a, b, c* y *d*. Kühnl y Spielmann (1978) por medio de esta técnica han identificado 10 fenotipos comunes, y su patrón electroforético aparece en la Figura C.52.



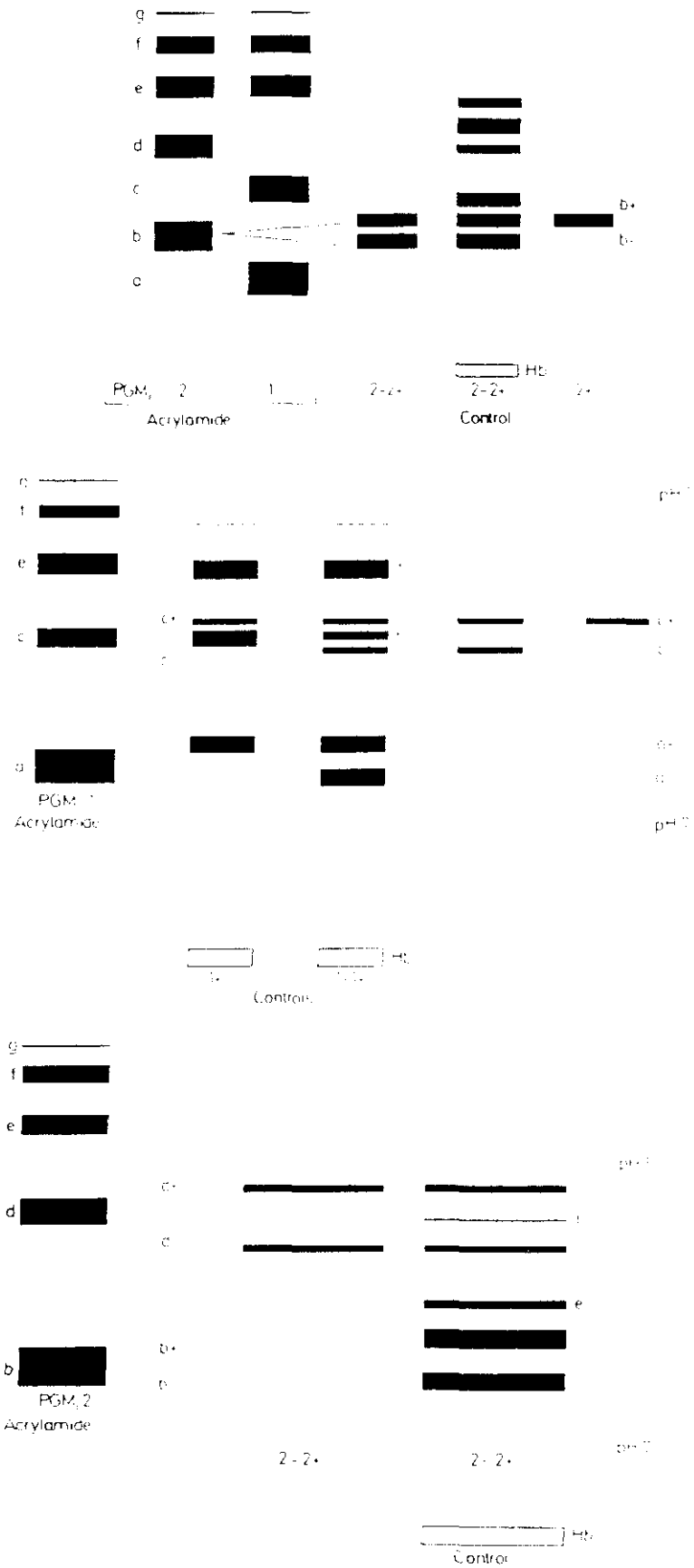


Fig. C.48, C.49, C.50 y C.51.- *Caracterización de las isoenzimas a, b, c y d en sus distintos componentes por medio de PAGIF (pH 5-7) (Tomado de Sutton, 1979).*

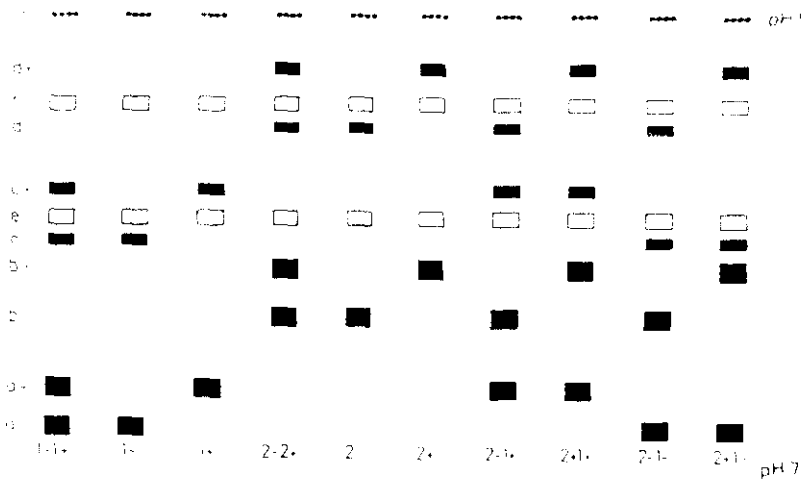


Fig. C.52.- *Componentes isoenzimáticas de la fosfoglucomutasa eritrocitaria determinada por PAGIF (pH 5-7) (Tomado de Sutton, 1979).*

Scozari *et al.,* (1981) han puesto en evidencia un posterior polimorfismo para este locus debido a la termoestabilidad de los productos alélicos (termoresistente *Tr* y termosensible *Ts*). Así, ha sido posible identificar, con el análisis de la sensiblidad al calor y el IEF 8 alelos denominados PGM1*2sTs, PGM1*2fTs, PGM1*2sTr, PGM1*2fTr PGM1*1sTs, PGM1*1fTs, PGM1*1sTr y PGM1*1fTr. Por lo tanto, cada alelo ha sido caracterizado por tres sitios específicos, responsables de los productos: 1/2, s/f y Ts/Tr.

Recientemente, March *et al.,* (1993) han detectado que en los 317 pares de bases de la región 3' del DNA del gen que codifica para la PGM1, existe un nuevo polimorfismo por la presencia de 8 alelos codominantes: PGM1.3'*1, PGM1.3'*2, PGM1.3'*3 y PGM1.3'*4, provocadas por tres sustituciones nucleotídicas en la región no trasncrita, que determinan 8 fenotipos. Se ha observado un fuerte

ligamiento de asociación entre el polimorfismo PGM +/- y el que existe a nivel del DNA de esta región, pero no aparece asociación con el PGM1*1 y PGM1*2. Esto apoya la idea de que la enzima PGM1 está determinada por dos sitios distintos en la secuencia codificante, una que codifica para los alelos PGM1*1 y PGM1*2 y otro que codifica para los alelos + y -, separados por una región donde tienen lugar las recombinaciones intragénicas.

Tabién, Hollyoake *et al.,* (1992) han detectado dos sitios polimórficos por la utilización de enzimas de restricción Taq1 (llamados A1 y A2 para el primer polimorfismo 5' y B1 y B2 para el segundo polimorfismo 3').

ACTIVIDAD Y FUNCION ENZIMATICA:

Los estudios cuantitativos de Modiano *et al.,* (1970) han demostrado una mínima diferencia, no significativa, en los valores de actividad media fenotípica. Scacchi *et al.,* (1983) han determinado la actividad fosfoglucomutásica relativa a nueve de los diez fenotipos diferenciables por isoelectroenfoque, estas actividades han resultado significativamente distintas en el orden PGM1 1- < PGM1 1+ = PGM1 2- < PGM1 2+.

También, en el caso de la PGM1, se han descrito alelos "silentes" PGM1*0 (Fiedler y Pettenkofer, 1969; Seger y Salmon, 1971; Veno *et al.,* 1976; Herzog y Libich 1982; Ward *et al.,* 1985). La actividad fosfoglucomutásica de fenotipos heterocigotos para este alelo ha resultado aproximadamente la mitad de la observada para los homocigotos PGM1 1 y 2. Una ausencia total de actividad se ha encontrado en un individuo homocigoto para el alelo PGM1*0 por Fiedler y

Pettenokofer, 1969. Un caso de actividad reducida, por el alelo PGM1*R ha sido encontrado por Brinkmann *et al.*, (1972).

INTERES ANTROPOLOGICO:

Los alelos comunes PGM1*1 y PGM1*2 se encuentran con frecuencias polimórficas en todas las poblaciones humanas. Los valores de frecuencia más altos para el alelo PGM1*2 se observan en las poblaciones europeas, mientras que los más bajos en las poblaciones asiáticas. Si bien, hay que tener en consideración que los valores de frecuencia difieren grandemente dentro de cada gran grupo humano (Figura C.53).

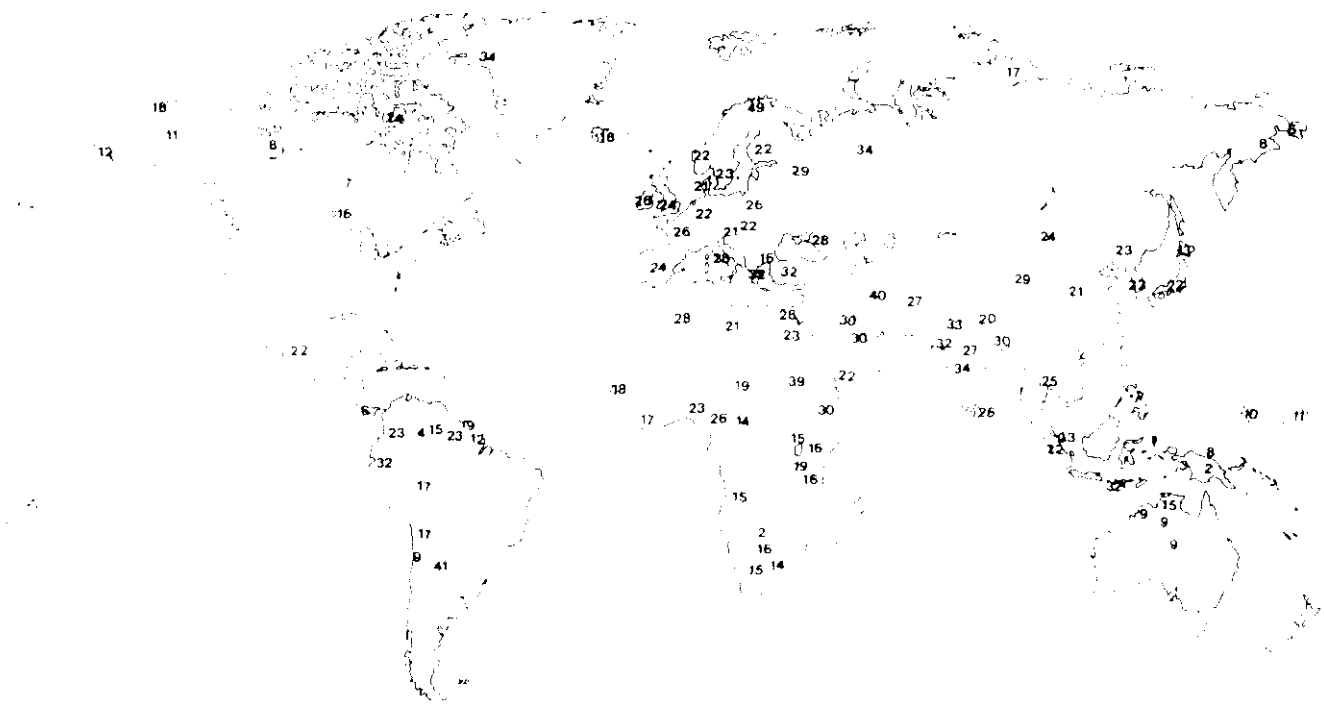


Fig. C.53.- *Distribución porcentual del alelo PGM1*2 en las distintas poblaciones humanas (Tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Además de estos tipos fosfoglucomutásicos comunes se han descubierto otros fenotipos raros (Hopkinson y Harris, 1976). Estos fenotipos son combinaciones heterocigóticas de los alelos comunes PGM1*1 y PGM1*2 con uno de los alelos raros del mismo locus génico. Ejemplos son los fenotipos PGM1 3-1, PGM1 3-2, PGM1 4-2, PGM1 5-2, PGM1 6-1 y PGM1 7-1, de los cuales en la Figura C.54. aparece el patrón electroforético, junto a los fenotipos comunes.

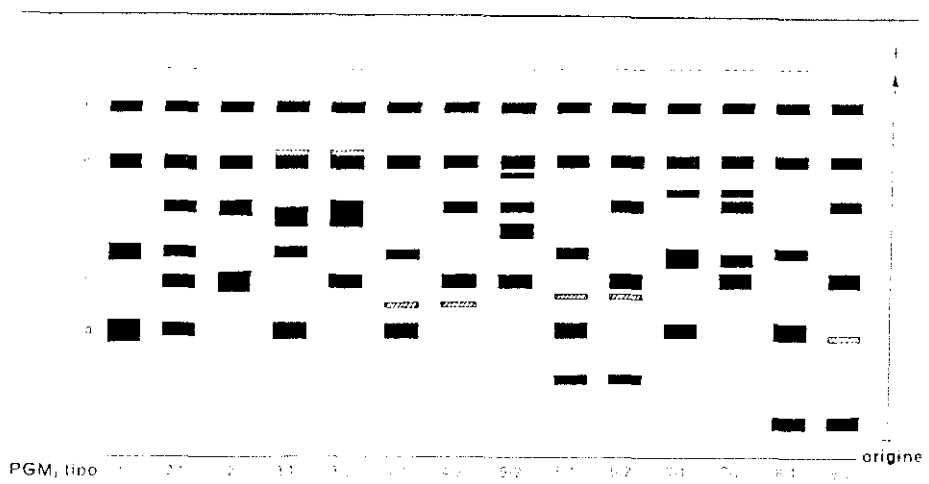


Fig. C.54.- *Patrón electroforético de los fenotipos comunes PGM1 1, 1-2 y 2 y de algunos fenotipos raros (Tomado de Hopkinson y Harris, 1976).*

Respecto a los alelos PGM1*1A, PGM1*1B, PGM1*2A Y PGM1*2B, que se pueden analizar a través de isoelectroenfoque, se ha puesto en evidencia que existe gran diferencia en sus frecuencias alélicas entre los distintos grupos humanos. Así, para los europeos, destaca la elevada frecuencia del alelo PGM1*1A

(62%), y la baja del PGM1*1B (13%), siendo las de los alelos PGM1*2A y PGM1*2B del 19 y 2%, respectivamente. Otros grupos caucasoides de Oriente Próximo, Norte de Africa y judios presentan la frecuencia del alelo PGM1*1B menor.

En poblaciones mongoloides las frecuencias más elevadas corresponden al alelo PGM1*1A con el 67-59%, la del alelo PGM1*1B es del 11-13% y la del alelo PGM1*2 entre el 21 y 23%. En Nueva Guinea el alelo PGM1*2 desciende hasta el 7%. En estas poblaciones mongoloides, se pone de manifiesto un gradientes de frecuencias para el alelo PGM1*1B del Noroeste hacia el sureste.

En poblaciones negroides subsaharianas se tienen que diferenciar dos zonas, el area centro-occidental y la sur-oriental, en base a las distintas frecuencias de los alelos PGM1*1A y PGM1*1B. La frecuencia del alelo PGM1*1A es más elevada en la parte occidental, con frecuencias en torno al 78%, mientras que las del alelo PGM1*1B solo alcanzan el 5%. En las comunidades negras de América se observa un cierto mestizaje con las poblaciones amerindias, ya que presentan frecuencias relativamente elevadas del alelo PGM1*1B y bajas del alelo PGM1*1A (Tartaglia y Rickards, 1993).

En el caso de los alelos termoresistentes y termosensibles, Scozzari *et al.*, (1984) han puesto de manifiesto que en Europa existe un cline del norte hacia el sur para los alelos PGM1*1Ts, que presentan valores desde 0,098 en Praga, hasta 0,055 en Nápoles. Asimismo, existe una correlación negativa entre las frecuencias de los alelos PGM1 termosensibles y la temperatura del habitat, por lo que se ha sugerido que existan distintos valores adaptativos asociados a los distintos alelos PGM1 Tr y Ts.

Algunos alelos raros para las poblaciones caucasoides han resultado ser polimórficos en otras poblaciones. El alelo PGM1*3, por ejemplo, es un alelo común en las poblaciones del área asiático-pacífica que alcanza frecuencias de hasta el 10% en distintas poblaciones de Nueva Guinea y en las islas Carolinas occidentales (Blake y Omoto, 1975). Frecuencias polimórficas se han encontrado también, para otras variantes alélicas raras, así, en el territorio de Queenstand (Australia) y en poblaciones chinas, la frecuencia del alelo PGM1*6 es superior al 1% y en las islas Carolinas occidentales los alelos PGM1*7 y PGM1*4 alcanzan frecuencias del 6% (Blake y Omoto, 1975). En esta región, se han identificado también otras muchas variantes raras.

Todas las variantes fenotípicas identificadas se han reexaminado por isoelectroenfoque, y en algunas de ellas se han encontrado subtipos , así, Dykes *et al.,* (1982) han descrito dos subtipos para la variante PGM1*7 llamadas PGM1*7+ y PGM1*7-, y Kamboh y Kirk (1983) han identificado dos subtipos para la variante PGM1*3 llamadas PGM1*3+ y PGM1*3- (en orden de pI creciente) y una posterior variante alélica PGM1*7 Delhi con un comportamiento electroforético igual al de la PGM1*7.

Santachiara-Benerecetti *et al.,* (1981) a través de electroforesis en gel de almidón a pH ácido, método que ha permitido a Bissbort *et al.,* (1978) determinar las variantes alélicas PGM1*1f, PGM1*1s, PGM1*2f y PGM1*2s, han identificado el alelo común PGM1*1 Twa en una población pigmea del norte de Ruanda con una frecuencia del 4,5%. La componente isoenzimática tiene una movilidad electroforética catódica más veloz de los componentes 1s y 1f. A causa del aumento del número de variantes alélicas encontradas para este locus y dada la

existencia de distintas nomenclaturas para indicar los distintos tipos identificables a través de IEF, en 1983 ha sido aceptada una nomenclatura oficial (Dykes *et al.*, 1985). Esta ha denominado los subtipos de los fenotipos 1 y 2 respectivamente, como PGM1*1A, PGM1*1B, PGM1*2A y PGM1*2B, indicando la A y B las variantes ácidas y básicas. Todas las otras variantes alélicas se han clasificado con una nomenclatura alfanumérica: W1, W2, W3, W4... según la velocidad relativa de migración anódica-catódica. En la tabla C.8. se indican las 30 variantes clasificadas según la vieja y nueva nomenclatura, y en las Figuras C.55, C.56 y C.57, aparecen los patrones de migración de estas variantes obtenidas por electroforesis en gel de agarosio (AGE), isoelectroenfoque en gel de poliacrilamida (PAGIF) y en gel de agarosio (AGIF).

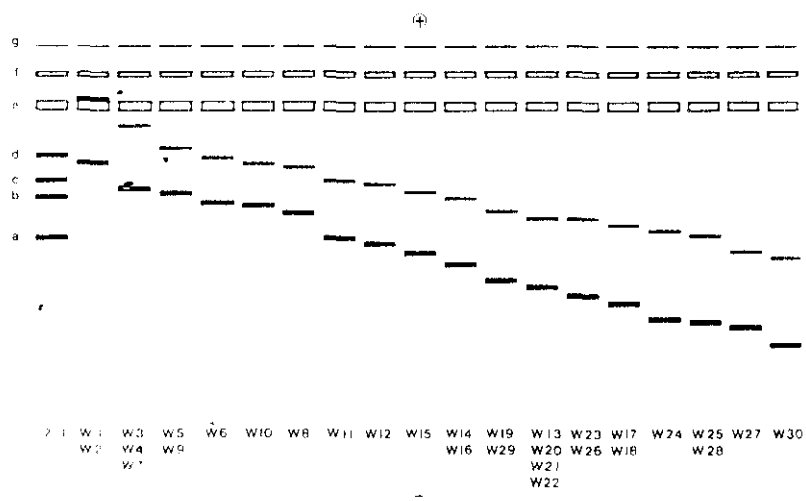


Fig. C.55.- *Patrón de bandas de las variantes del locus PGM1 determinadas por AGE (Tomado de Dykes et al., 1985).*

Tabla C.8.- *Relación de variantes raras, encontradas en el Workshop Internacional de Munich (Alemania), 1983 (Tomado de Dykes et al., 1985).*

NOMENCLATURA		
NUEVA	*VIEJA*	*REF. BIBLIOGRAFICA*
W1	3, 3+	Hopkinson y Harris, 1966
W2	3, 3-	Takahashi *et al.*, 1982
W3	7, 7+	" "
W4	7, 7-	" "
W5		Dykes *et al.*, 1985
2A		" "
W6	a7	Dykes y Polesky, 1981
W7		Dykes *et al.*, 1985
2B		Dykes *et al.*, 1985
W8	4	Hopkinson y Harris, 1966
W9	a9	Dykes y Polesky, 1981
W10	a8	" " "
1A		Dykes *et al.*, 1985
W11	a5	" "
1B		" "
W12		" "
W13		" "
W14	a6	Dykes y Polesky, 1981
W15	4	Scherz *et al.*, 1981
W16		Dykes *et al.*, 1985
W17	6HR1	Satoh *et al.*, 1977
W18		Dykes *et al.*, 1985
W19	6	Hopkinson y Harris, 1966
W20		Dykes *et al.*, 1985
W21	a10	" "
W22	4	Dobosz y Koziol, 1981
W23	6NG2	Satoh *et al.*, 1977
W24	6RH3	Satoh *et al.*, 1985
W25	6	Dykes y Polesky, 1981
W26		Dykes *et al.*, 1985
W27	8	Dykes y Polesky, 1981
W28	6HR2	Satoh *et al.*, 1977
W29	6NG3	Satoh *et al.*, 1985
W30	8NG1	Satoh *et al.*, 1977
W31		Bertrams *et al.*, 1986

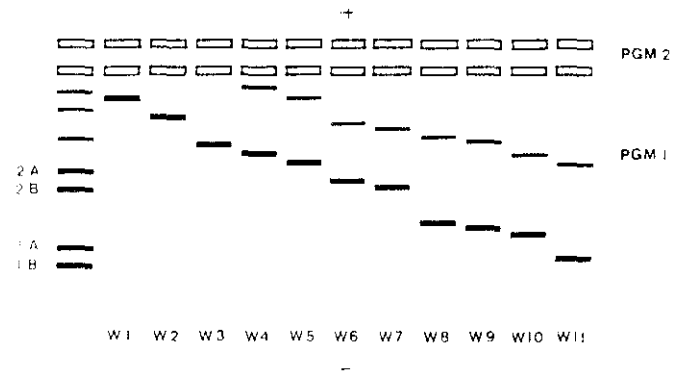


Fig. C.56.- *Patrón de bandas de las variantes del locus PGM1 con migración más anódica respecto a 1A, determinadas por AGIF (pH 4-8) (Tomado de Dykes et al., 1985).*

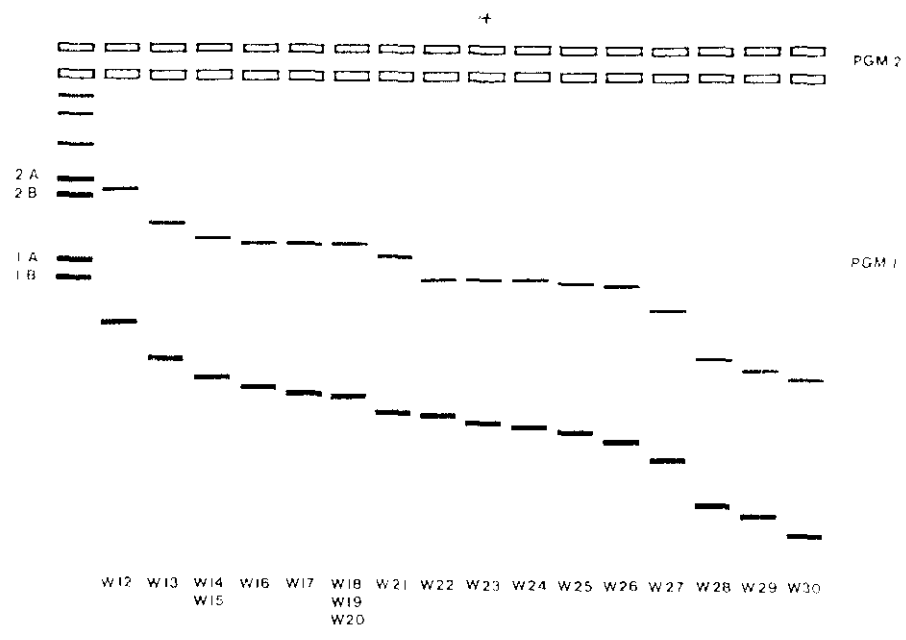


Fig. C.57.- *Patrón de bandas de las variantes del locus PGM1 con migración más catódica respecto a 1A, determinadas por AGIF (pH 5-7) (Tomado de Dykes et al., 1985).*

Carter *et al.*, (1979) a través de electroforesis en gel de almidón e isoelectroenfoque, han comparado los patrones de migración de una muestra de 14 primates (7 chimpances, 4 gorilas y 3 orangutanes) con el humano, encontrando en los primeros, exclusivamente, el fenotipo PGM1 1A. Esta observación ha sugerido la hipótesis de la presencia de PGM1*1A como alelo ancestral, del cual se han formado los otros alelos comunes PGM1*1B, PGM1*2A y PGM1*2B por medio de dos mutaciones independientes y una siguiente recombinación intragénica. La hipótesis puede ser la misma para los otros cuatro alelos PGM1*W1, PGM1*W2, PGM1*W3 y PGM1*W4. Se ha llevado a cabo distintos estudios sobre la distribución de las frecuencias alélicas para estos últimos cuatro subtipos en el área asiático-pacífica, donde aparecen frecuentemente con frecuencias polimórficas, incluso en las mismas poblaciones. Takahashi *et al.*, (1982) han determinado los valores de pI de los productos génicos de estos 8 alelos y han mostrado la aditividad de la diferencia entre estos valores. La peculiar distribución de la frecuencia de los alelos PGM1*W3, W4, W1 y W2 y la aditividad de la diferencia de los valores de pI coinciden con la hipótesis filogenética para el locus PGM1*1A representado en la Figura C.58.

Los alelos PGM1*1B y PGM1*2A se han formado probablemente por simple sustitución nucleotídica en dos distintos sitios intragénicos. Una sucesiva recombinación intragénica entre estos dos últimos alelos ha dado origen al PGM1*2B, que resulta, de hecho, el alelo menos frecuente. También, el alelo PGM1*W3 se ha formado probablemente por simple sustitución nucleotídica del PGM1*1A y después sucesivamente ha dado origen, por dos "crossing-over" intragénicos con el PGM1*2B y con el PGM1*2A, respectivamente al PGM1*W4

y el PGM1*W1, y finalmente, este último, al PGM1*W2.

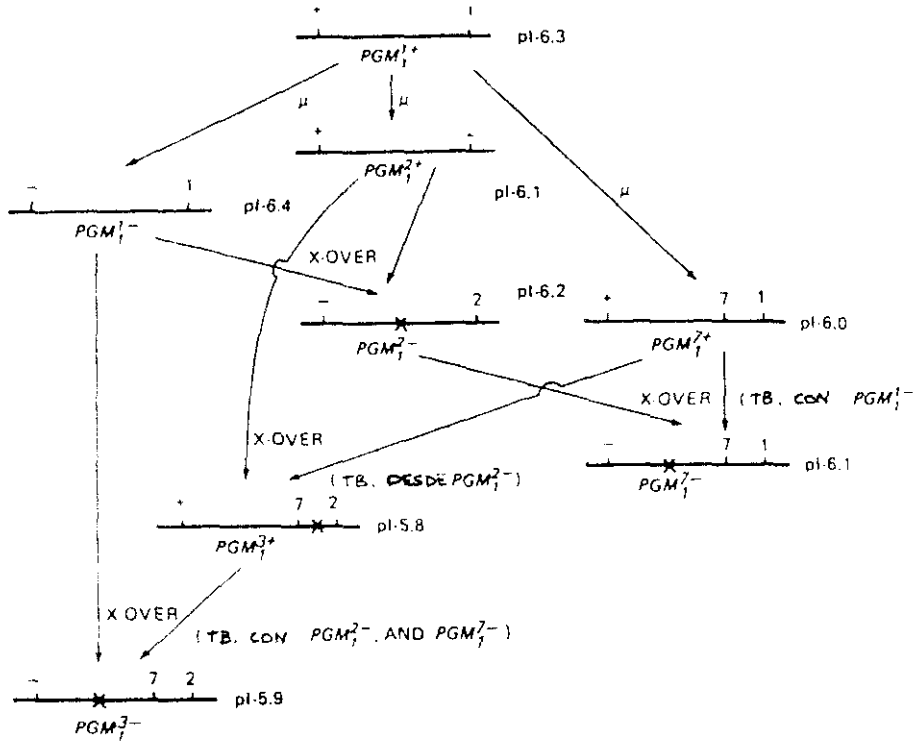


Fig. C.58.- *Posible filogenia de los alelos PGM1*1+ (1A), PGM1*1- (1B), PGM1*2+ (2A) y PGM1*2- (2B), PGM1*3+ (W1), PGM1*3- (W2), PGM1*7+ (W3) y PGM1*7- (W4). μ indica la mutación, y X el posible "crossing-over". (Tomado de Takahashi et al., 1982).*

VARIANTES FENOTIPICAS DEL LOCUS PGM2:

Investigaciones de Hopkinson y Harris (1965, 1966), en población negra, observaron variantes en las bandas *e, f* y *g*. Por estudios familiares observaron la independencia del locus PGM1 y se vió que estas bandas eran reguladas por su propio locus PGM2. El nuevo fenotipo, en un inicio se llamó "Atkinson" y se interpretó como la base del alelo PGM2*2. Este alelo solamente se encuentra, de forma polimórfica en algunas poblaciones de Africa. Posteriormente, se describió el alelo PGM2*3 llamado "Palmer" y posteriormente se han identificado numerosas

variantes electroforéticas para el sistema PGM2, que aparecen en heterocigotos junto al alelo común PGM2*1, como son el PGM2*4, PGM2*5, PGM2*6, PGM2*6 Ind, PGM2*7, PGm2*8, PGM2*Pyg, todos ellos caracterizados por distinta movilidad electroforética. Los patrones electroforéticas de algunos de estos alelos raros aparecen en la Figura C.59.

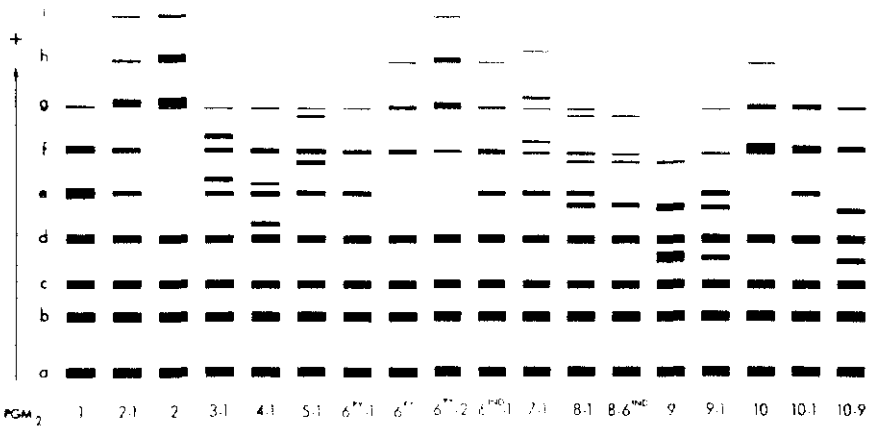


Fig. C.59.- *Patrón electroforético de los fenotipos raros de PGM2. En todos ellos el fenotipo del locus PGM1 es 2-1. (Tomado de Blake y Omoto, 1975).*

C.1.10. HEMOGLOBINA (HB)

ESTRUCTURA Y FUNCION:

La hemoglobina es una hemoproteina compuesta por una fracción proteica de alto peso molecular (la globina) y de una fracción no proteica de bajo peso molecular, llamada hemo o grupo prostético que contiene un átomo de hierro.

La globina es un tetrámero de, aproximadamente, 64.000 D, compuesto por dos pares de cadenas polipeptídicas idénticas, dos de tipo α y dos de tipo no α (γ, ϵ, δ o β) ligadas, cada una a un hemo. Las cadenas α están compuestas por 141 aminoácidos, y las no-α por 146. Cada cadena está producida bajo el control de un gen estructural. Por su particular conformación espacial, cada cadena forma una "bolsa" hidrofóbica que recoge el hemo y le permite, manteniendo el átomo de Fe al estado ferroso (Fe^{++}), llevar a cabo su función de unir el O_2 a nivel de los alveolos pulmonares y de cederlo a nivel de los tejidos. Otros factores como la concentración de iones H^+, de CO_2, de acido 2-3 difosfoglicérico, efecto Bohr influyen en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

En la especie humana normalmente existen tres tipos de hemoglobinas: la hemoglobina adulta, llamada HB A, la HB A_2 y la HB fetal o HB F. La HB A constituye el 97-98% de la HB del individuo normal después del nacimiento, la A_2 el 2,0-2,5% y la HB F es la hemoglobina propia de la vida fetal y existe en el adulto sólo como trazas.

La HB A está compuesta de dos cadenas α y dos cadenas β ($\alpha_2\beta_2$), la HB A_2 de dos cadenas α y dos cadenas δ ($\alpha_2\delta_2$) y la HB F de dos cadenas α y dos cadenas

γ ($\alpha_2\gamma_2$). Estas cadenas γ pueden ser de dos tipos, las Gγ y las Aγ diferentes porque en el aminoácido 136 la G tiene glicina y en la A es alanina.

Como se puede ver en la Figura C.60., hasta la décima semana de desarrollo en el embrión existen las cadenas ζ y ϵ. En la sexta semana inica la producción de las cadenas α y γ en sus dos tipos A y G en las proporciones de 3:1. Después comienza la síntesis de cadenas β, y por lo tanto, la HB A. Esta HB A, a la décima semana, constituye el 10% del total de la HB del feto, y en el momento del nacimiento el 20-30%. En los meses sucesivos al nacimiento descienden los niveles de HB F y desaparece practicamente al sexto mes de vida, sustituida por la HB A y, en baja proporción, por la HB A_2. El lugar de síntesis de estas cadenas también varía durante el desarrollo ontogénico de modo que la eritropoyesis tiene lugar primero en el saco vitelino, luego en el hígado y bazo, y posteriormente, en la vida postnatal, en la médula ósea.

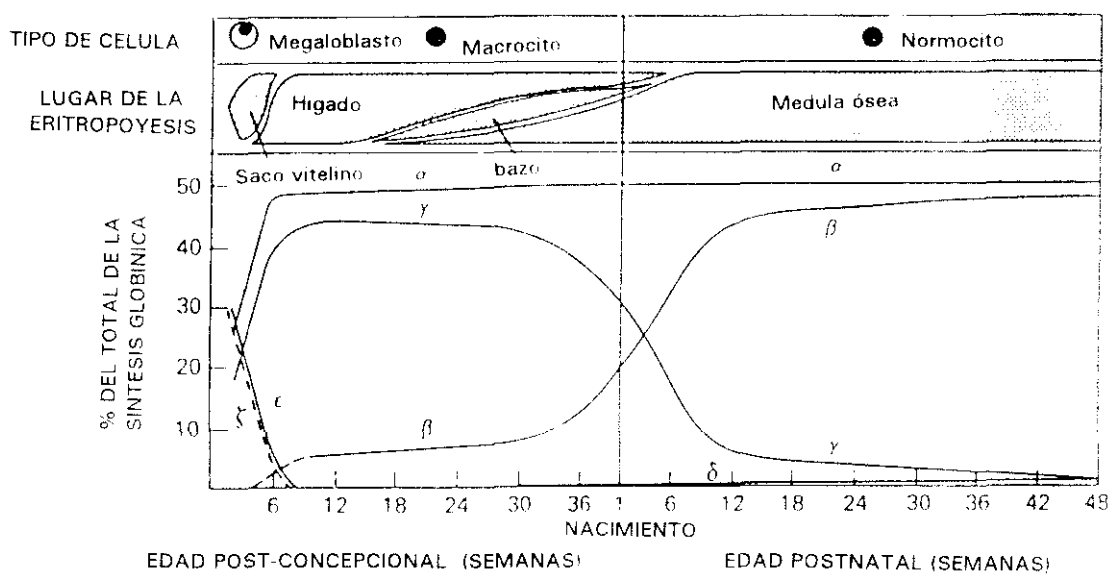


Fig. C.60.- *Expresión de los genes globínicos durante la ontogénesis (tomado de Karlsson y Nienhuis, 1985).*

Los distintos tipos de hemoglobinas se pueden distinguir por métodos electroforéticos, así, a pH alcalino, la HB A_2 se reconoce por su movilidad menor respecto de la HB A. La HB F tiene solubilidad mucho mayor que la HB A, movilidad electroforética a pH alcalino levemente menor y se destaca completamente de esta si se presenta en cantidad suficiente. Está caracterizada por una gran resistencia a la desnaturalización alcalina y por una curva de absorbancia en el espectro de la luz UV con banda del triptófano desplazada hacia las longitudes de onda más bajas respecto a las de la HB A.

ORGANIZACION CROMOSOMICA, ESTRUCTURA Y EXPRESION DE LOS GENES GLOBINICOS:

Como se puede observar en la figura C.61., los genes ζ y α (cluster α) se localizan en el extremo distal del brazo corto del cromosoma 16, en un segmento de DNA de 30 Kb. Los genes β-similares o genes no-α (cluster no-α) se localizan en la parte distal del brazo corto del cromosoma 11, en un segmento del DNA de 60 Kb. La disposición de los genes sobre los respectivos cromosomas es la misma que la de su expresión ontogénica durante el desarrollo, de 5' a 3', según el orden de transcripción.

En el cromosoma 11, se encuentran dispuestos del 5' al 3', el gen ϵ, el gen G_γ y el A_γ, el $\psi\beta$, el δ y el β, en el cromosoma 16 el gen ζ, los pseudogenes $\zeta 1$, $\psi\alpha 2$ y $\psi\alpha 1$, los genes $\alpha 2$ y $\alpha 1$, y finalmente el pseudegen $\vartheta 1$.

En el segmento de DNA entre los distintos genes del cluster no-α existen secuencias repetitivas de dos tipos: los de la familia AluI y los de la familia KpnI, cuyo nombre corresponde a las enzimas de restricción que los identifican (Figura

C.61.). Secuencias del tipo AluI también existen en el cluster α. Todas estas zonas son sitios con alta frecuencia de recombinación.

Las regiones limítrofes con el cluster α, en los extremos 5' y 3' contienen regiones hipervariables (5'HVR y 3'HVR) que son secuencias repetitivas ricas en GC. Otra zona hipervariable está entre los genes ζ y el $\psi\zeta$ y otras dos entre el IVS-I de los genes ζ y $\psi\zeta$.

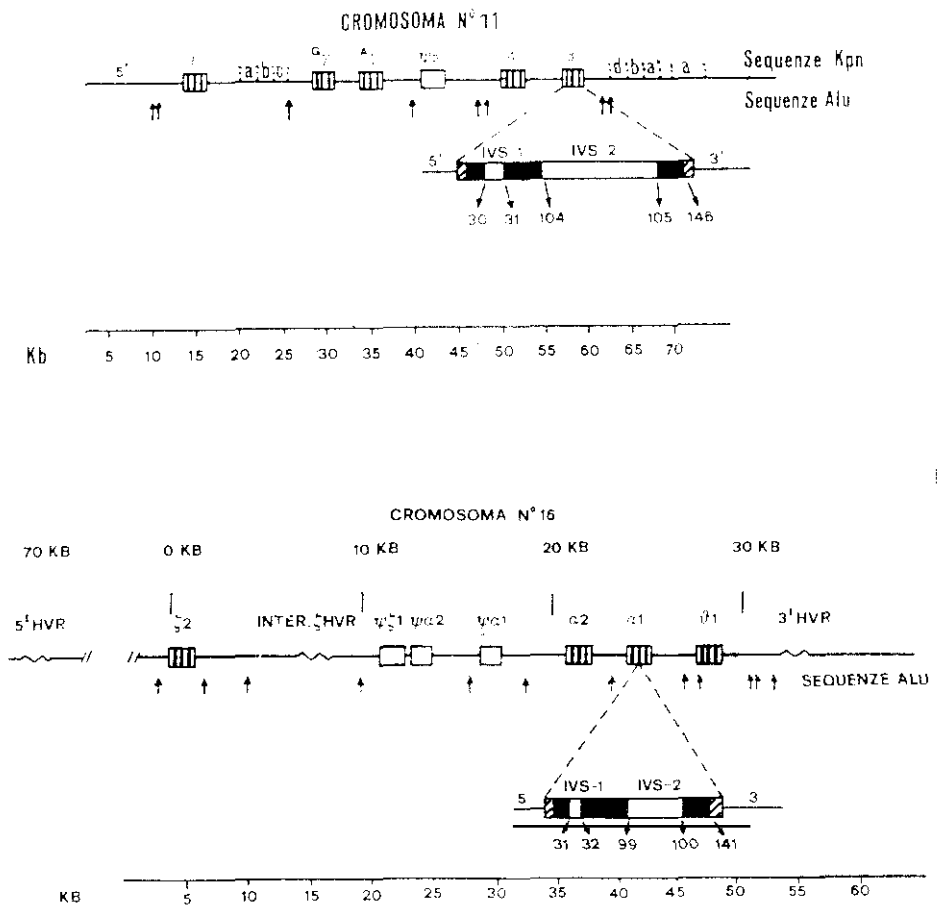


Fig. C.61.- *Disposición de los genes globínicos α y no-α en los cromosomas 11 y 16. En la parte ampliada aparecen la estructura de los genes ß y α1, con los exones en negro, los intrones en blanco y las zonas que no son traducidas de los extremos 5' y 3' rayadas (adaptado de Bianco-Silvestroni, 1992).*

En el interior de los cluster α y no-α hay presentes secuencias estructuralmente similares a estos genes pero no funcionales y por eso denominadas pseudogenes. Son genes que probablemente han experimentado una inactivación a lo largo de la evolución de la proteina, desde hace 500 millones de años (Bianco-Silvestroni, 1992).

Todos los genes globínicos tienen una estructura general común a la gran mayoría de los genes estructurales de los eucariotas, y por lo tanto, están constituidos por exones e introns. Los genes globínicos, en particular, tienen todos tres exones y dos introns. Se sabe mucho acerca de la secuencia de los genes globínicos y se ha estudiado la función de cada una de las partes no codificantes. Así, por ejemplo, todos los genes globínicos presentan en la extremidad 5' y 3' secuencias delimitantes que, aunque no son transcritas, tienen un papel fundamental en el proceso de transcripción (Karlsson y Nienhuis, 1985).

INTERES ANTROPOLOGICO:

La secuencia del DNA del cluster globínico, al igual que el resto del DNA, puede variar notablemente entre los distintos individuos. En algunos genomas se han encontrado sustituciones nucleotídicas, pequeñas delecciones o inserciones que se pueden detectar por el estudio de la secuencia del DNA o por enzimas de restricción. Además, existen zonas hipervariables, con alta densidad de polimorfismo, en la región α y en la no-α en el segmento intergénico δ-ß, en la región 5' del gen δ, y en el extremo 5' del gen $^{A}\gamma$. Además se han observado numerosas traslocaciones cromosómicas de la región 16p13 que afecta a una región no codificante, variación en el número de genes α debido a "crossing-over",

conversiones génicas, inhibición en la síntesis de una de las cadenas produciendose las talasemias, etc.. (Antonarakis *et al.*, 1985). Todo esto apunta a que el número de variantes que se conocen para la hemoglobina sea elevado como se puede ver en la tabla C.9., incluso en la actualidad, su número será mayor.

Tabla C.9.- *Número de variantes para la hemoglobina en las distintas cadenas (tomado de Spiess, 1989).*

	NUMERO DE VARIANTES	
CADENA	*TOTAL*	*POLIMORFICAS*
α	144	8
β	269	20
γ	32	4
δ	15	4

Como se puede observar, la mayoría de estas variantes son raras y se presentan en un individuo o una familia, o con frecuencias bajísimas en la población, por eso, en el campo antropológico, las que más nos interesan son las que alcanzan frecunecias polimórficas. Por ejmeplo cabría citar el caso de 8 lugares polimórficos localizados en el extremo 5' del locus δ, en donde aparecen tres haplotipos con una frecuencia del 94% en la HB A en Grecia, Italia e India, o también, la zona 3' del locus ß; además de las provocadas por algunas mutaciones puntuales que dan lugar a distintos tipos de cadenas. Así son de destacar las mutaciones que afectan a la cadena ß y por tanto a la HB A, la más abundante en el individuo adulto, y que se pueden distinguir por electroforesis (Figura C. 64.).

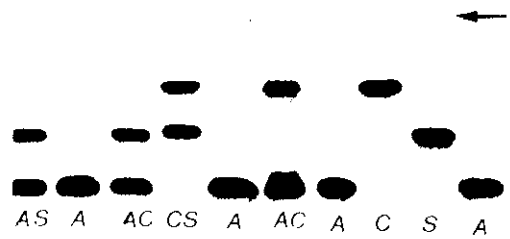


Fig. C.64.- *Electroforesis de HB A, donde se aprecian algunos de los genotipos debidos a mutaciones en la cadena ß de la globina (Electroforesis realizada en el laboratorio de Antropología, del Dipartimento di Biologia, dell'Universitá "Tor Vergata" de Roma).*

HEMOGLOBINA S.-

En 1949, Pauling *et al.*, descubrieron que los individuos que presentaban un cierto tipo de anemia llamada falciforme presentaban dos tipos de hemoglobinas, con distintas propiedades físicas y electroforéticas. Aparecía tanto la HB A, tipo normal, como otra que llamaron HB S. Esta nueva variante electroforeticamente presentaba una banda más lenta que la de la HB A. En los individuos homocigotos SS aparecía solamente la banda más lenta.

Dicha variante hemoglobínica difiere de la hemoglobina normal A por un cambio de un aminoácido, el glutámico de la posición 6 de la cadena ß se ha sustituido por valina.

Esta variante es responsable de un tipo de hemoglobinopatía conocida como "sicklemia" o anemia falciforme, debido a la forma de hoz o media luna que presentan los eritrocitos que contienen este tipo de hemoglobina. Dicha anomalía es producida porque la hemoglobina se polimeriza y forma estructuras tubulares que distorsionan el hematíe, y se forman aglomerados en los capilares. En su forma más grave, provoca retraso en el crecimiento y la maduración del individuo, y puede producir la muerte del individuo.

Dicha variante fué identificada dentro de un modelo genético mendeliano simple. En el caso de los heterocigotos AS, existe una deformación moderada del eritrocito y una anemia benigna.

En cuanto a la frecuencia de aparición de esta variante, es abundante en Africa ecuatorial y tropical, con frecuencias que alcanzan valores del 20% en algunas zonas, existe también en el Mediterráneo y en la India (Figura C.65.)

Fig. C.65.- *Distribución mundial de la frecuencia de la HBß*S (tomado de Roychoudhury y Nei, 1988).*

Con el fín de investigar sobre el origen de esta mutación que provoca la HB S, se han estudiado los polimorfismos del DNA del cluster de la ß globina, y se ha observado que existen algunos polimorfismos que están fuertemente ligados a esta mutación, llegando a la conclusión de que existen, al menos 5 haplotipos distintos que provocan la siclemia, y que podrían tener diferentes lugares de origen, que serían cuatro en Africa (Camerún, Senegal, Benín y Bantú) y otro en Asia (India) (Kan y Dozy, 1980; Lapouméroulie *et al.,* 1992; Nagel *et al.,* 1985). Estudios recientes, llevados a cabo en las comunidades negras de Brasil, han puesto en evidencia que el tipo más frecuente es el Bantú (66,2%), seguido del de Benín (23%), y sólo se ha encontrado un caso con el haplotipo del Senegal (Zago *et al.,* 1992).

HEMOGLOBINA C.-

Fué descubierta en 1950 por Itano y Pauling. Como en el caso de la hemoglobina S, se produce por una mutación puntual que afecta a la síntesis de la cadena ß, de modo que en la posición 6 en lugar de glutámico aparece lisina. Esta variante, electroforeticamente, presenta una movilidad más lenta que la variante S.

Desde el punto de vista clínico su manifestación se reduce a un tipo de anemia no demasiado grave. Aparece en Africa occidental, su frecuencia más elevada se encuentra en la meseta de Alto Volta al norte de Ghana, descendiendo su frecuencia en forma de gradiente en todas las direcciones desde este punto. Haciendo estudios a nivel de los polimorfismos del DNA, parece ser que el origen de esta variante sería único, en el oeste de Africa (Kan y Dozy, 1980), lo cual

apoya la hipótesis de un modelo de difusión simple (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1971).

OTRAS VARIANTES HEMOGLOBINICAS.-

También son de interés antropológico otras variantes hemoglobínicas como la E, descubierta en 1954, en la cual se produce la mutación del glutámico de la posición 26 de la cadena ß por una lisina y que aparece con frecuencias apreciables en el sur-este asiático, hasta un 50% en Tailandia; la HB D descubierta en 1951, con movilidad electroforética similar a la S a pH de 8,6 pero diferente a pH 6, y más soluble que la S, debido a la mutación del acido glutámico de posición 121 por glutamina; se distinquen la HB D_{Punjab} que presenta frecuencias apreciables en algunos grupos de la India, y sureste de Europa; la HB K, descubierta en 1956, con frecuencia apreciable en el norte y oeste de Africa, es debida a la mutación de glicina de la posición 46 por acido glutámico, o la lisina de la posición 132 por glutamina; la HB O, descubierta en 1956, que es frecuente en los árabes, bulgaros e indonesia, provocada por el cambio de glutámico de la posición ß121 a lisina, o bien el glutámico de α116 por lisina (Spiess, 1989).

Las talasemias debidas a defectos génicos se caracterizan por la ausencia o deficiencia en la síntesis de las cadenas globínicas y se presentan, igualmente, con frecuencias apreciables en las poblaciones humanas. Originalmente se encontraron en el Mediterráneo (*Thalassemia o anemia de Cooley*) en donde son relativamente frecuentes, y después, se han detectado en todo el mundo. Pueden ser de varios tipos, de ellas las más importantes son: la α talasemia cuando afecta a la cadena α, o bien, ß talasemia, cuando está alterada la cadena ß. Por técnicas

de DNA recombinante se han podido analizar los distintos tipos de talasemias según el origen del defecto génico, ya que se reduce o elimina la síntesis de las cadenas por alteraciones que afectan al *splicing,* el procesamiento del mRNA, a los codones de terminación, a la poliadenilación, etc... (Adams y Coleman, 1990; Orkin y Nathan, 1981). La ß es la más frecuente, caracterizada por una anemia leve, con ausencia o poca síntesis de HB A, con HB F incrementada y síntesis de cadena α elevada. En Italia y Grecia sus frecuencias oscilan entre el 6 y 14%, y son del 2 al 5% en el sureste asiático. Por el contrario, la α talasemia es más grave, e incluso, los homocigotos mueren antes del nacimiento. Se sintetiza solamente cadena ß y γ, y aparece con frecuencias apreciables en el sureste asiático (Spiess, 1989).

SELECCION NATURAL:

En 1949, Haldane al detectar la coincidencia de la distribución geográfica de la malaria, provocada por *Plasmodium falciparum*, y de la anemia falciforme sugirió que el mantenimiento del polimorfismo podía deberse a un caso de selección, en el cual, la presencia del alelo HBß*S confería resistencia a la enfermedad, fundamentalmente en los individuos AS, ya que, como se ha indicado, en el caso de los homocigotos SS la siclemia resulta causa de muerte en edad temprana.

La evidencia de que el heterocigoto para el el gen de las células falciformes es más eficaz desde el punto de vista biológico, procede de dos fuentes principales (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981):

a) En las áreas endémicas de malaria, la frecuencia de las células falciformes aumenta con la edad, debido a la mortalidad diferencial de los individuos.

b) Una parte de las diferencias en la eficacia biológica entre los heterocigotos

y los homocigotos puede ser debida a la existencia de una fertilidad diferencial. Se ha observado que las mujeres heterocigotas son más fértiles que las homocigotas normales, porque poseen una tasa de abortos inferior, probablemente debido a que la infección en la placenta causada por malaria, es menos grave en las mujeres falcémicas respecto a las normales.

Existen cuatro lineas que apoyan la idea de que la malaria sea la responsable de la ventaja a los heterocigotos:

1) La ya comentada coincidencia en la distribución geográfica.

2) Los experimentos llevados a cabo por Allison en 1954, en voluntarios negros, en los cuales infectó con *Plasmodium falciparum* a 15 sujetos normales y 15 que tenían la anemia falciforme, la enfermedad apareció en 14 de los individuos normales y sólo en dos de los 15 falcémicos.

3) Existe una diferencia significativa entre el número de parásitos contabilizados por unidad de volumen de sangre, que es mayor en los individuos normales que en los falcémicos, después de una infección espontánea.

4) Allison en 1964, comprobó que la incidencia de infecciones graves en niños, era dos veces mayor en los homocigotos AA (20%) que en los AS (10%). Motulsky en 1964, observó que de cada 100 niños que morían de malaria, sólo uno era heterocigoto AS.

Por lo tanto, la fuerte selección en contra de los homocigotos SS es compensada por una selección a favor de los heterocigotos AS, los cuales tienen ventaja en el ambiente malárico, no sólo frente a los SS, sino también, frente a los AA, porque presentan menos tendencia a sufrir la enfermedad, y porque son más resistentes a esta y su manifestación es menos grave.

La eficacia se puede expresar por:

1.- el tamaño de la descendencia,

2.- la frección de descendientes que sobrevivien a la edad reproductora,

3.- la fracción de descendientes que alcanzan la edad reproductora de sus padres,

4.- la fracción de descendientes que alcanzan el final del periodo reproductivo, es decir los 45 años en la mujer y 55 en el varón.

A partir de diversos estudios, Rucknagel y Neel (1961) obtuvieron una eficacia biológica aproximada para los individuos AA respecto de los AS de 0,85. Es decir, la eficacia de los heterocigotos sería de 1, y la de los sujetos normales sería menor.

En cuanto al mecanismo de protección, el parásito (*Plasmodium falciparum*), se transmite por la picadura del mosquito *Anopheles* que actúa como vector. Cuando el merozoito se encuentra en un eritrocito AS, que no está deformado, se comporta normalmente. Cuando dicha célula, se retiene en un tejido, dada la baja tensión de oxígeno del ambiente y el bajo pH intracelular, la célula huesped se hace falciforme, el nivel de potasio desciende y el parásito muere (Friedman y Trager, 1981).

En el caso de las talasemias, también se ha descrito una ventaja selectiva frente a la malaria, pero el mecanismo protector es distinto. Al parecer, el parásito acentúa la capacidad oxidativa del eritrocito por la producción de peróxido de hidrógeno. Esto afecta a los lípidos de la membrana provocando su destrucción y la liberación de potasio interior, de modo que el parásito no se desarrolla en la sangre de los individuos talasémicos (Friedman y Trager, 1981).

Para finalizar, destacamos el hecho de que la HB S es uno de los casos mejor conocidos de la relación entre selección natural y un polimorfismo genético, no obstante, dado que otras variantes (G6PD, HB C, Talasemia) también se relacionan con el ambiente malárico y coinciden geograficamente, fenómenos de interacción o solapamiento pueden dificultar la interpretación de los resultados encontrados.

C.2. POLIMORFISMOS DEL DNA:

El estudio de la variabilidad genética usando marcadores proteicos presenta dos limitaciones:

1) la incapacidad de revelar la variabilidad de los genes estructurales que no determinan sustituciones aminoacídicas en el producto,

2) la imposibilidad de estudiar la porción del DNA que constituye la mayor proporción en el genoma humano, es decir, la que no codifica para proteínas.

Ambas limitaciones pueden ser superadas estudiando directamente el DNA. Con la llegada de las tecnologías de DNA recombinante y del clonaje génico, el descubriento de las enzimas de restricción y la posibilidad de secuenciar los ácidos nucleicos estas limitaciones se han superado.

Entre las distintas metodologías, la que utiliza endonucleasas de restricción ha resultado de particular utilidad para los estudios de biología evolutiva y poblacional. Estas enzimas pueden unirse al DNA y cortar la doble hélice en las zonas correspondientes a una secuencia específica de 4-7 pares de bases, que son los llamados lugares de restricción. Si se corta el DNA de un individuo con una serie de estas enzimas, cada una de ellas reconoce una secuencia de nucleótidos específica, así, se obtienen una serie de fragmentos de DNA que pueden ser analizados si se hace reaccionar su extremo con fósforo radiactivo, estos fragmentos pueden ser separados unos de otros por una electroforesis en gel de poliacrilamida, que diferencia la migración según el peso del fragmento, y posteriormente son visulizados mediante autorradiografía, esta serie de fragmentos

se llaman polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP *Restriction fragment length polymorphism)* (Summers, 1987). De esta forma es posible comparar distintos DNA, que han sido digeridos con las mismas enzimas de restricción. Las diferencias entre el número y tipo de fragmentos, estudiando dos DNA diferentes, se deben a sustituciones de una sola base (mutaciones puntiformes) que pueden crear un lugar nuevo de restricción, o bien, tienen lugar en la secuencia de reconocimiento, y hacen que desaparezca, la enzima no lo reconoce y por lo tanto no lo corta; en ambos casos, el resultado es un mapa de restricción distinto.

Comparando los mapas de restricción de diferentes individuos podemos evidenciar las mutaciones que se han producido en el DNA. Este tipo de análisis, definido como de restricción, tiene un poder de resolución que se sitúa en posición intermedia entre el análisis de los productos génicos y la secuencia del DNA. Estudios que han utilizado gran número de enzimas de restricción son los que se han llevado a cabo en los genes responsables de la síntesis de la albúmina, hemoglobina o en segmentos concretos de DNA de distintos cromosomas. En el genoma humano se ha demostrado que, en promedio, una pareja nucleotídica de cada 300 en el genoma humano varía polimórficamente (Cooper y Schmidke, 1986). Una de las primeras utilizaciones de carácter antropológico a partir de datos aportados por este tipo de análisis, fué la llevada a cabo sobre DNA mitocondrial con la finalidad de establecer las relaciones filéticas existentes entre algunos primates Hominoidea (Ferris *et al.,* 1981), lo cual resultaba muy difícil mediante el análisis de genes nucleares. También, con DNA mitocondrial, el equipo de Wilson en California ha aplicado este método para aclarar el origen del hombre

anatómicamente moderno. Se utilizó el DNA mitocondrial de 147 individuos pertenecientes a 5 grandes grupos étnicos con 12 enzimas de restricción. Este análisis ha puesto en evidencia la existencia de dos ramificaciones que sugieren una división con la mayoría de los negroides de una parte, y de otra caucasoides, mongoloides y el resto de las poblaciones negroides (Cann, Stoneking y Wilson, 1987).

Aunque el análisis con enzimas de restricción es muy informativo, no da una estima efectiva del grado de variabilidad del genoma humano, porque no está en condiciones de identificar mutaciones puntiformes, presentes en el interior del fragmento de restricción, ni de discriminar entre las distintas posibles mutaciones que dan origen a la pérdida o adquisición de un nuevo lugar. Además, con el estudio de RFLP, se pueden confundir mutaciones conformacionales con las verdaderas mutaciones de longitud (Vigilant *et al.,* 1988).

En los últimos años, se han desarrollado nuevas tecnologías que permiten tener información sobre la secuencia nucleotídica de un fragmento específico de DNA en tiempo breve y en distintos individuos, pudiéndose llevar a cabo estudios de poblaciones a nivel de secuencia del DNA. El uso de una nueva técnica, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR *Polymerase chain reaction)* permite amplificar un fragmento específico de DNA en pocas horas y de secuenciar directamente ese producto amplificado, permitiendo, así, obtener la secuencia nucleotídica en sólo dos días, superando las dificultades que existen con otras técnicas moleculares.

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

La PCR es un método de clonaje de DNA prescindiendo de microrganismos (Saiki *et al.,* 1985; Mullis *et al.,* 1986). Desde su descubrimiento, hace 5 años, ha revolucionado la biología molecular, por la gran cantidad de usos que se le han dado (Innis *et al.,* 1990). Permite la rápida selección, aislamiento y amplificación de regiones de DNA de interés, a partir de cantidades mínimas de tejidos, y constituye un paso previo para la posterior secuenciación del DNA. Como son suficientes cantidades mínimas, esta técnica permite examinar secuencias de DNA de tejidos antiguos, que hayan sido secados, congelados o momificados (Pääbo, 1989; 1990).

La velocidad con la cual se puede extraer, amplificar y secuenciar permite tener datos de secuencia a gran escala, que son útiles para los estudios de sistemática o poblacionales.

La PCR utiliza trozos de DNA de 18-25 pares de bases, llamados *primers* que fijan los límites de la región a amplificar. Deben ser complementarios o bastante homólogos a los segmentos de la región a clonar.

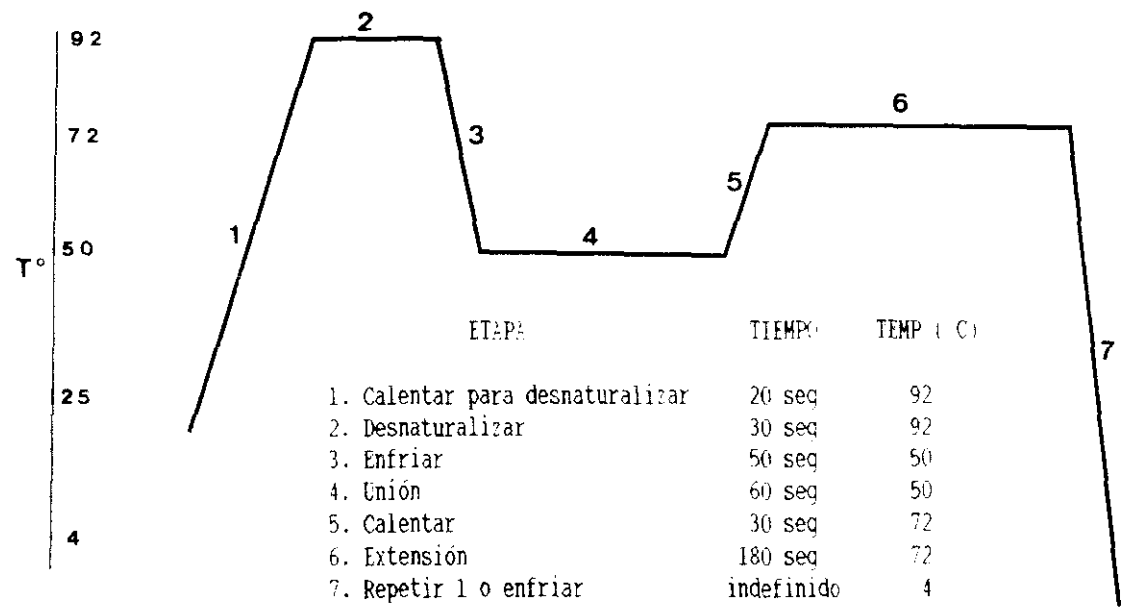
La reacción de PCR tiene lugar en tres etapas, que son: desnaturalización, complementación o *annealing* y extensión. La mezcla de reacción contiene el DNA, dos primers que son complementarios a los extremos de las dos cadenas opuestas, un tampón, los cuatro nucleotídos en igual proporción y una enzima polimerasa que es termoestable *(Taq polimerasa).*

- En la primera etapa, la temperatura aumenta rapidamente a 94-96°C, desde 15 segundos hasta 1 minuto. La doble hélice de DNA se desnaturaliza, y se disocian las dos cadenas.

- En la segunda etapa, la temperatura desciende rapidamente, a aproximadamente 50°C, y tiene lugar el *annealing* o complementación de los *primers* con la cadena de DNA.

- En la tercera etapa, tiene lugar la extensión, que se produce a una temperatura de 72-74°C para una eficacia máxima de la Taq polymerasa. Se ha comprobado que a esa temperatura la enzima une de 35 a 100 nucleótidos por segundo, por lo tanto, en 1 minuto se pueden amplificar 2 Kb.

De nuevo la temperatura sube a 92°C, para la disociación de las dos cadenas. El número de ciclos necesarios varía entre 25 y 40 dependiendo del número de moléculas iniciales (Simon, Franke y Martin, 1991) (Figura C.66.).



ETAPA	TIEMPO	TEMP (C)
1. Calentar para desnaturalizar	20 seg	92
2. Desnaturalizar	30 seg	92
3. Enfriar	50 seg	50
4. Unión	60 seg	50
5. Calentar	30 seg	72
6. Extensión	180 seg	72
7. Repetir 1 o enfriar	indefinido	4

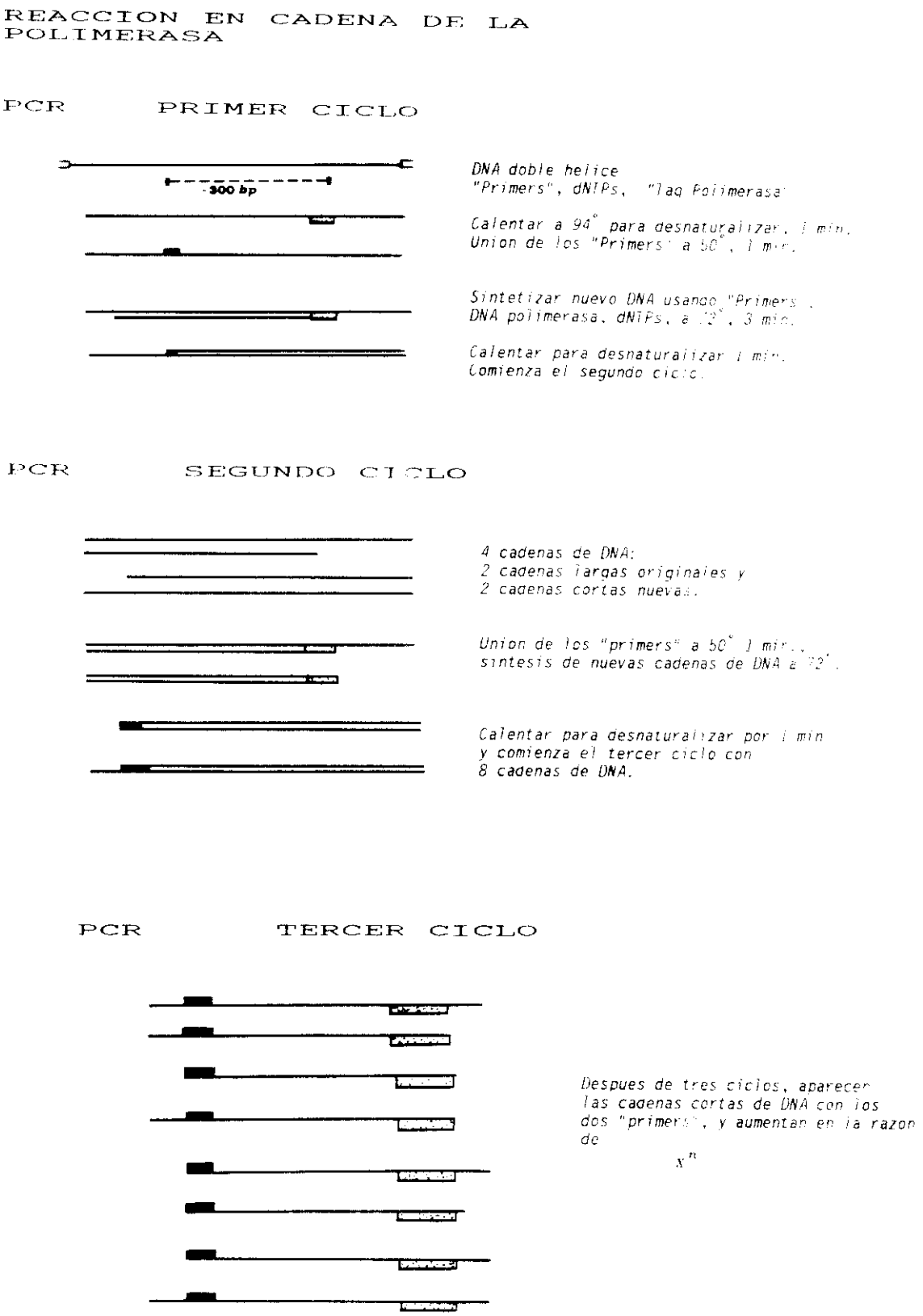


Fig. C.66.- *Esquema de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).*

El poder disponer de datos de secuencia para estudiar la historia evolutiva de las poblaciones es importante, porque tales datos poseen un poder informativo muy completo. Con estos es posible confrontar directamente secuencias nucleotídicas de regiones exónicas o intrónicas de genes estructurales o de regiones no codificantes, pudiendo evidenciar cualquier mutación puntiforme.

El estudio de la secuencia de genes en poblaciones naturales, nos permite seguir filogenias de genes y distinguir los que son iguales por descendencia o los que presentan una misma mutación pero no son relacionados ancestralmente, al menos, en un pasado reciente. En este último, la identidad por selección podrá ser distinta de una identidad histórica. La capacidad de seguir las filogenias de los genes nos permitirá dar respuesta a problemas de migración, de dimensiones efectivas de la población, y de repetitividad de eventos mutacionales y citogenéticos.

C.2.1. DNA MITOCONDRIAL:

En el DNA nuclear las mutaciones se acumulan lentamente, además, los genes nucleares se heredan de ambos padres y se mezclan en cada generación. Esta continua mezcla, provocada por los fenómenos recombinativos, tiende a oscurecer la historia genética de la secuencia a no ser que se tomen en consideración trozos de DNA estrechamente asociados. Existen dos tipos de secuencias de DNA que dan solución a estos problemas: el DNA mitocondrial (mtDNA) y las secuencias de DNA específico del cromosoma Y. La transmisión tanto del mtDNA como el del cromosoma Y es uniparental, sólo se heredan por via materna o paterna, respectivamente, y además, no sufren recombinación. El DNA

mitocondrial que es una molécula circular de DNA de doble hélice (Figura C.67.), formada por 16.569 pb, muy empaquetada, en la cual no existen practicamente nucleótidos inútiles, y que para el hombre se conoce totalmente su secuencia (Anderson *et al.*, 1981).

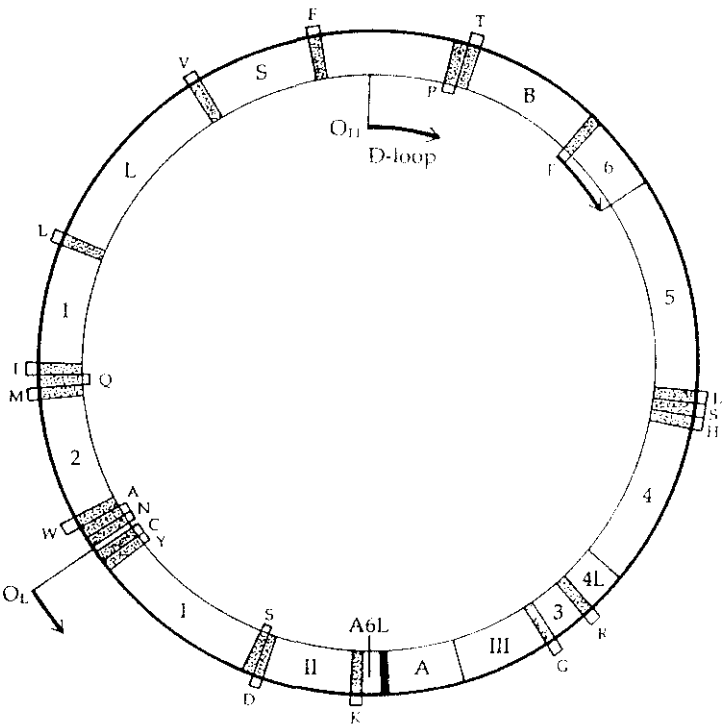


Fig. C.67.- *Organización de la molécula de DNA mitocondrial. Contiene 13 regiones que codifican para proteinas, 12 de las cuales tienen que ver con el trasporte electrónico y con la síntesis de ATP, además están los genes que codifican para 22 moléculas de tRNA y dos RNAm.*

Presenta la ventaja de que acumula las mutaciones más rapidamente, debido a que muchas de estas mutaciones no alteran la función de la mitocondria, son neutras, y por lo tanto la selección natural no las elimina.

Según la fórmula,

$$E = M F$$

donde E es la tasa de evolución, M es la tasa de mutación por población y F es la fracción de mutaciones fijadas, está claro que para el DNA mitocondrial la tasa de evolución es más alta, respecto del DNA nuclear debido a que se fijan más mutaciones. Por lo tanto, este DNA se comporta como un reloj molecular en el cual el "tic-tac" es muy rápido, ideal para identificar mutaciones que se han producido en un periodo de tiempo breve, como es la microevolución de las poblaciones humanas (Wilson *et al.*, 1985).

C.3.1.1.REGION V

Un cambio evolutivo en el DNA mitocondrial son las mutaciones de longitud (Cann y Wilson, 1983). Una de estas es la debida a una delección de 9 pares de bases presentes en un pequeño fragmento que es la región V. Esta región no codificante, que se localiza entre el gen que codifica para la subunidad II de la citocromo oxidasa y el gen que codifica para la lysil-tRNA (ver Figura C.68.). En este segmento de 121 pb, se incluye una secuencia de 9 pb (-CCCCCTCTA-) que se repite dos veces (Anderson *et al.*, 1981; Wrischnik *et al.*, 1987). La delección de una de estas secuencias de 9 pb se ha visto que tiene lugar con relativa frecuencia en individuos de origen del este asiático (Wrischnik *et al.*, 1987).

Cuando se lleva a cabo por PCR la amplificación de este segmento, se hace

una migración electroforética en agarosa al 4% y se tiñe con bromuro de etidio, se puede visualizar directamente el producto amplificado, y se pueden distinguir los fragmentos de 112 y 121 pb que corresponden a la region V con la delección de los 9 pb y sin la delección, respectivamente (Figura C.68.).

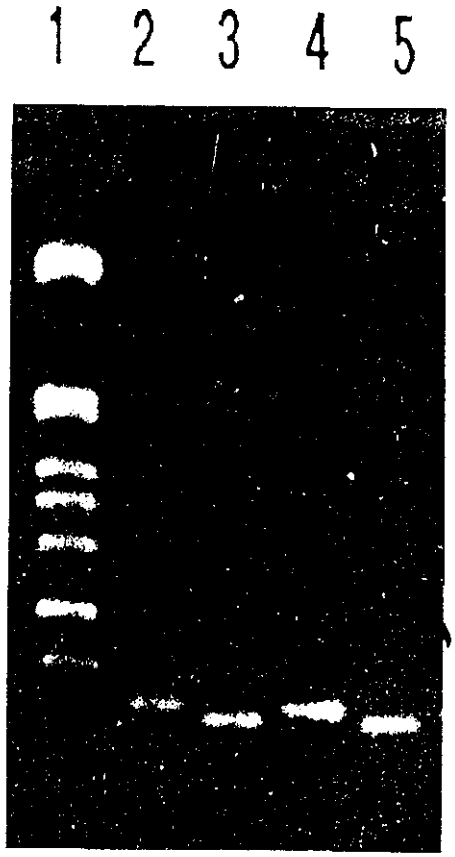


Fig. C.68.- *Productos de PCR de segmentos de DNA mitocondrial de la región V normales y que presentan la delección (tomado de Harihara et al., 1992)*

En los estudios que se han llevado a cabo hasta el momento, las frecuencias de la delección en la región V, se resumen en la tabla C.10.

Tabla C.10.- *Frecuencia de la delección de la región V del DNA mitocondrial en distintas poblaciones.*

POBLACION	N	% DELECCION	REF. BIBLIOGRAFICA
AFRICA			
AFRICA	14	0,0	Lum *et al.*, 1993
BERBA, BENIN	50	0,0	Rickards y Cann, 1991
FON, BENIN	50	0,0	Rickards y Cann, 1991
DENDI, BENIN	50	0,0	Rickards y Cann, 1991
BARIBA, BENIN	50	0,0	Rickards y Cann, 1991
AMERICA			
ISLA VANCOUVER	63	3,0	Ward *et al.*, 1991
BERING ABORIG.	176	2,0	Shields *et al.*, 1992
INDIGENAS			
AMERINDIOS POOL	72	18,0	Horai *et al.*, 1993
PIMA	31	45,2	Schurr *et al.*, 1990
MAYA	37	21,6	Schurr *et al.*, 1990
TICUNA	31	0,0	Schurr *et al.*, 1990
CAYAPA	50	44,0	Rickards, Cann, 1991
ASIA			
ASIA CONTINENTAL	17	30,0	Lum *et al.*, 1993
ESTE ASIA	34	17,6	Cann, Stoneking y Wilson, 1987
JAPON	116	16,0	Horai y Matsunaga,1986
JAPON	63	19,0	Harihara *et al.*, 1992
AINU	51	2,0	Harihara *et al.*, 1992
INDONESIA	10	60,0	Lum *et al.*, 1993
KOREA	64	64,0	Harihara *et al.*, 1992
KOREA	13	15,4	Ballinger *et al.*, 1992
MALASIA ORIENT.	14	7,1	Ballinger *et al.*, 1992
MALASIA	14	14,3	Ballinger *et al.*, 1992
MALASIA ABORIG.	32	3,1	Ballinger *et al.*, 1992
SABAH ABORIG.	32	18,7	Ballinger *et al.*, 1992
HAN, TAIWAN	20	40,0	Ballinger *et al.*, 1992
VIETNAM	28	17,9	Ballinger *et al.*, 1992
OCEANIA			
PNG', MONTAÑA	64	0,0	Stoneking y Wilson, 1989
PNG, MONTAÑA	30	0,0	Hertzberg *et al.*, 1989
PNG, MONTAÑA	3	0,0	Lum *et al.*, 1993
PNG, COSTA	55	41,8	Stoneking y Wilson, 1989
PNG, COSTA	28	14,2	Hertzberg *et al.*, 1989
ABOR. ASUTRALIA	20	0,0	Cann, Stoneking, Wilson, 1987
ABOR. AUSTRALIA	31	3,0	Hertzberg *et al.*, 1989
ABOR. AUSTRALIA	11	0,0	Lum *et al.*, 1993
SAMOA	30	100,0	Hertzberg *et al.*, 1989
SAMOA	18	89,0	Lum *et al.*, 1993
MAORIS	30	100,0	Hertzberg *et al.*, 1989
NIVEA	30	100,0	Hertzberg *et al.*, 1989
ISLA DE COOK	30	87,0	Hertzberg *et al.*, 1989
TONGA	30	77,0	Hertzberg *et al.*, 1989
TONGA	2	100,0	Lum *et al.*, 1993
FIJI	28	82,0	Hertzberg *et al.*, 1989
TOLA	40	8,0	Hertzberg *et al.*, 1989
NEGRITO	37	91,9	Harihara *et al.*, 1992
VEDDA	20	0,0	Harihara *et al.*, 1992
HAWAII	25	92,0	Lum *et al.*, 1993
MICRONESIA	4	75,0	Lum *et al.*, 1993
EUROPA			
CAUCASOIDES	46	0,0	Cann, Stoneking, Wilson, 1987.
EUROPA	3	0,0	Lum *et al.*, 1993

* PNG: PAPUA NUEVA GUINEA.

Como se puede observar, la frecuencia es relativamente elevada en las poblaciones del este asiático y de Oceanía, y en aquellas que tienen su origen en dichas poblaciones, en el resto es inexistente.

Por lo tanto, el estudio de la región V puede ser interesante en grupos que hayan tenido que ver, según los datos históricos, con poblaciones asiáticas, pacíficas o amerindias, porque se puede dar una estima del mestizaje con dichas poblaciones. Así, es importante analizar la frecuencia con la cual se encuentra presente esta delección en las comunidades afro-americanas, que son poblaciones di o trihíbridas, con el fín de valorar la contribución de genes maternos de la población nativa americana al "pool" génico actual de estos grupos. Efectivamente, por ejemplo, Cann *et al.,* (1987) al hacer su estudio para intentar conocer el origen de *Homo sapiens*, detectaron en un individuo negro de Estados Unidos la presencia de la delección y fué interpretado como un caso de mestizaje con indígenas americanos, ya que, en Africa y Europa, los datos hasta ahora disponibles no han puesto en evidencia la presencia de la delección en la región V (Rickards y Cann, 1991)

D. MATERIAL Y METODOS

D.1. LA MUESTRA

Se han analizado 255 muestras sanguíneas de individuos parcialmente emparentados pertenecientes a dos comunidades afroamericanas que habitan en la provincia de Esmeraldas (Ecuador). Así, se han estudiado un total de 177 individuos de ambos sexos (81 mujeres y 96 varones) que viven a lo largo del Rio Cayapas y de sus afluentes y 78 sujetos (46 mujeres y 32 varones) residentes en la ciudad de Viche (Figura D.1).

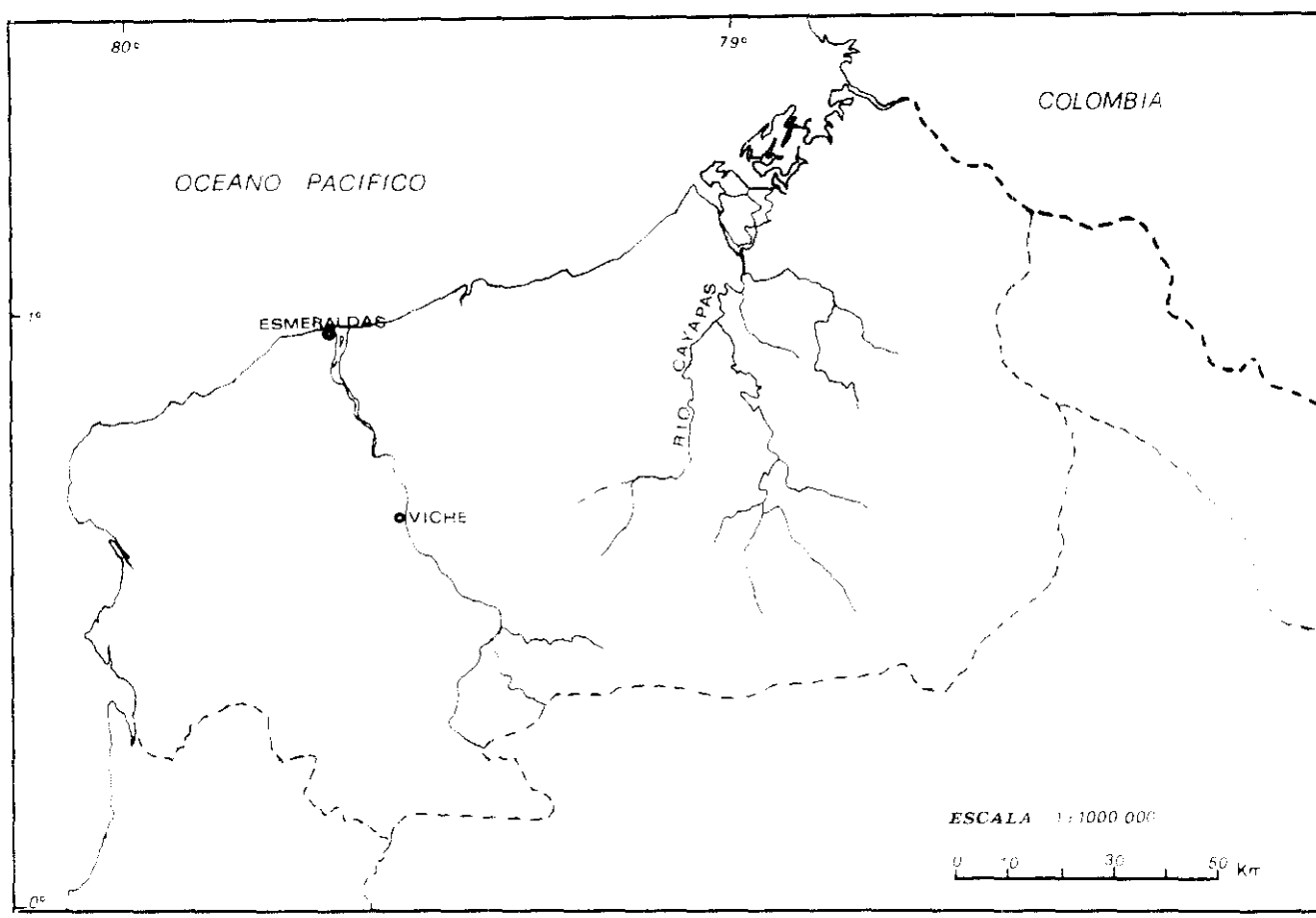


Fig. D.1.- *Localización geográfica de la Provincia de Esmeraldas, con el Rio Cayapas y sus afluentes y con la ciudad de Viche, donde se ha llevado a cabo la recogida de las muestras.*

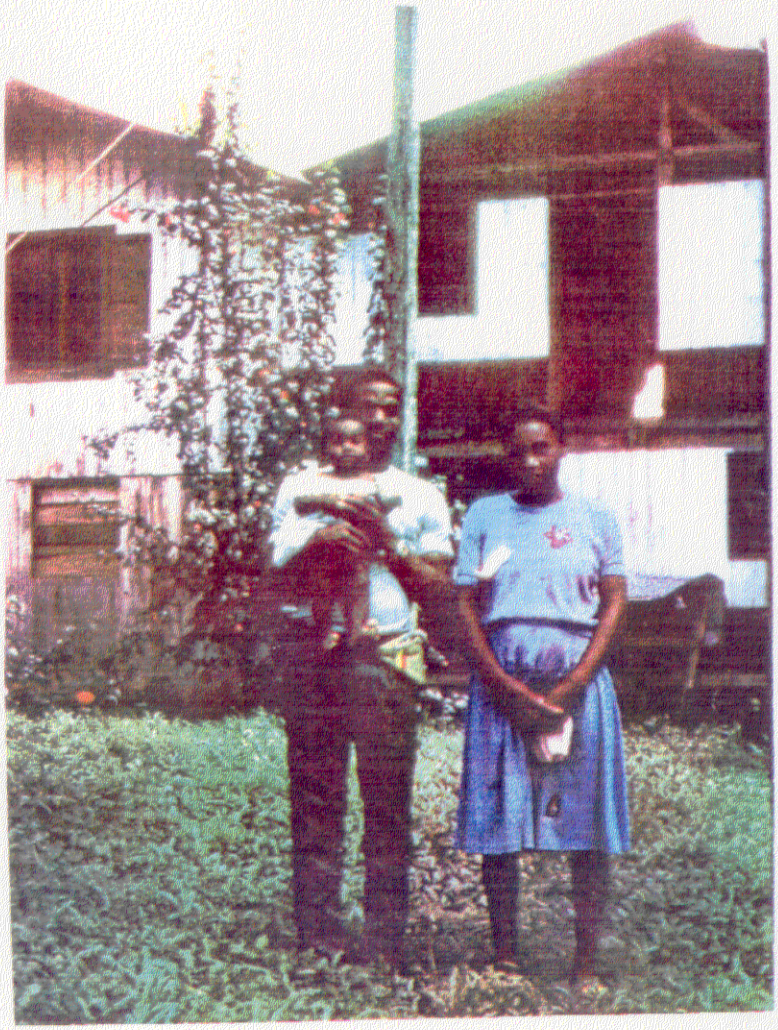


Fig. D.2.- *Individuos analizados de la comunidad afroamericana del Rio Cayapas.*

Fig. D.3.- *Grupo de individuos de la comunidad Afro-americana de Viche.*

Junto a cada muestra de sangre se ha obtenido la siguiente información relativa al individuo, a sus padres y a sus abuelos: nombre, apellidos, sexo, edad, etnia, lugar de nacimiento y de residencia. En los análisis solo se han tenido en cuenta los individuos cuyos dos padres eran definidos como "negros", habiéndose excluido los de tipo mixto. A partir de estos datos, se ha elaborado un fichero de datos, con el cual ha sido posible establecer las relaciones de parentesco dentro de cada grupo y en la tabla D.1. aparece la composición de ambas muestras analizadas, según su relación familiar. Cabe indicar que aparecieron grupos familiares de más de dos componentes, en dichos casos, fueron eliminados los de número de protocolo más alto, permaneciendo exclusivamente parejas de parientes.

Tabla D.1.- *Composición de la muestra según la relación de parentesco.*

	Rio Cayapas	***Viche***
Sujetos no emparentados	133	58
Parejas padre/madre-hijo/a	12	3
Parejas hermanos	3	3
Parejas medios hermanos	3	2
Parejas tio/a-sobrino/a	2	0
Parejas abuelo/a-nieto/a	2	2
TOTAL INDIVIDUOS	177	78

La toma de las muestras se ha llevado a cabo por el Prof. G.F. De Stefano, de la Università "Tor Vergata" de Roma, Italia, durante los meses de Abril de 1990 para la comunidad de Viche; y en Abril, Mayo y Agosto de 1990 y Abril de 1992 para la de Rio Cayapas.

Cada muestra de sangre se ha extraido por punción venosa, recogida en dos probetas estériles conteniendo ACD como anticoagulante; una de ellas fue inmediatamente congelada con nitrógeno líquido y la otra mantenida entre 4 y 6°C durante un máximo de 15 días. Durante este periodo, fué trasladada al Laboratorio de Antropología, del Dipartimento di Biologia della II Università degli Studi di Roma "Tor Vergata" y, ya, en dicho laboratorio, inmediatamente, las probetas congeladas a -20°C fueron introducidas en un arcón congelador a -80°C, para una conservación más duradera de la sangre. Respecto a las mantenidas a 4-6°C se procedió a la separación del plasma de los hematíes, como se indica en el apartado correspondiente.

LAMINAS I Y II: *Algunos aspectos de las comunidades afro-americanas de Viche y de Rio Cayapas (Ecuador).*

Dos aspectos del Rio Cayapas, donde habita la comunidad afro-americana, junto a los indios Cayapas.

Grupo de cabañas, junto al Rio Cayapas, donde habita la comunidad afro-americana.

Aspecto de la Parroquia de Borbón, en las orillas del Rio Cayapas.

D.2. ANALISIS DE LABORATORIO

D.2.1. PREPARACION DE LAS MUESTRAS SANGUINEAS

La separación del plasma respecto a los glóbulos rojos se ha realizado mediante una centrifugación a 1500 rpm, durante 20 minutos (centrifuga mod. *Megafuge 1.0 Heraeus Sepatech, Kalkberg, Alemania*).

Después de la centrifugación, se transvasa el plasma (sobrenadante) a otra probeta y se congela a -20°C.

El sedimento, compuesto por hematies, es sometido a un lavado con la finalidad de eliminar restos de plasma y otros elementos sanguíneos que puedan alterar los análisis posteriores. Para ello, se le añade igual volumen de PBS (Phosphate Buffer Saline), cuya composición es:

- 8,0 g NaCl
- 0,4 g KCl
- 1,0 g Na_2HPO_4
- 0,2 g NaH_2PO_4
- Añadir H_2O, hasta alcanzar un volumen de 1000 ml.

El sedimento junto con el PBS se mezcla por inversión y se centrifuga a 1500 rpm, durante 10 minutos.

Se elimina el sobrenadante, y se repite dos veces el procedimiento anterior, hasta obtener los hematies limpios.

Finalizada esta operación, los eritrocitos lavados se reparten en tres probetas *Eppendorf* y se congelan a -80°C, donde se mantienen hasta el momento de la

determinación fenotípica por electroforesis o isoelectrofocalización. Los eritrocitos, así congelados, experimentan un proceso hemolítico.

D.2.2. METODOS ELECTROFORETICOS

Las electroforesis se han llevado a cabo utilizando como soporte acetato de celulosa -*CELLOGEL- (mod. HR, 5,7x14 cm)*, un depositor/aplicador multiple semimicro, y cubetas electroforéticas *modelo France (cod. 11A04)* (todo ello de la casa *Chemetron Labometrics, Milan, Italia*). Se han utilizado fuentes de alimentación mod. *TITAN PLUS electrophoresis Power Supply (Helena Laboratories Beaumont, USA)*.

D.2.2.1. SOPORTE ELECTROFORETICO

Las técnicas electroforéticas sobre acetato de celulosa requieren menor cantidad de tiempo y ofrecen mejor resolución respecto a las tradicionales metodologías sobre geles de almidón, además, precisan un volumen reducido de hemolizado y cantidades menores de mezcla de revelación; por ello, se ha elegido este soporte para el estudio.

Las tiras de acetato de celulosa, conservadas en una solución de metanol al 30% para evitar su deshidratación, deben ser secadas, antes de su uso, entre dos hojas de papel de filtro y sucesivamente inmersas en el mismo tampón usado para la migración durante un tiempo de 15 minutos, con el fín de permitir que el tampón empape uniformemente toda la matriz porosa (equilibrio). Cuando se produce la migración electroforética, retiene así mayor cantidad de tampón (iones), pasa mayor cantidad de corriente y de calor. La misma matriz sufre una modificación en la estructura de los poros, ofreciendo una resistencia diferente al movimiento de las proteinas. Las tiras tamponadas, previamente secadas entre dos hojas de papel de filtro para quitar el exceso de tampón, se extienden entre los puentes, de

modo que sus extremidades estén en contacto directo con el tampón contenido en los dos compartimentos de la cubeta electroforética. Este montaje debe ser efectuado rapidamente para evitar la desecación de la tira. (Figura D.4).

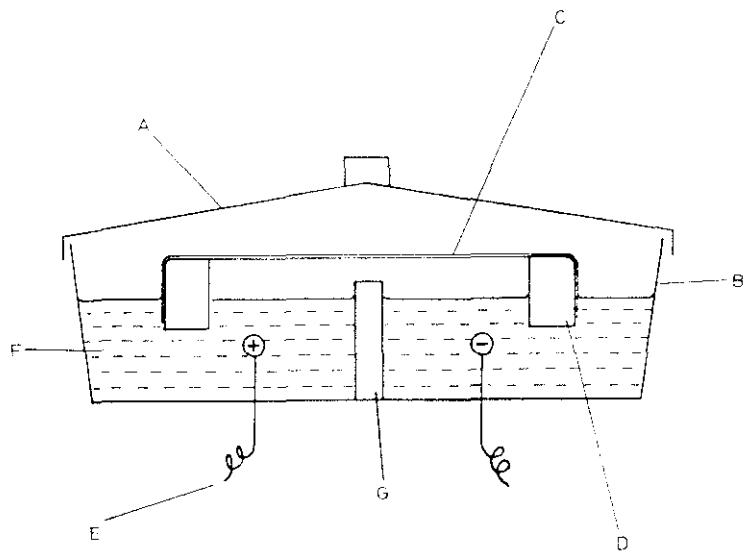


Fig. D.4.- *Esquema de la cubeta de electroforesis para acetato de celulosa. A: tapadera; B: cubeta de plástico; C: tira de acetato de celulosa (Cellogel); D: puente; E: electrodos; F: tampón de migración; G: separación de la cubeta en dos compartimentos (tomado de Harris y Hopkinson, 1976).*

D.2.2.2. PREPARACION DE LOS HEMOLIZADOS: ALICUOTAS

Los eritrocitos, que han permanecido congelados hasta su utilización, deben ser diluidos con el fín de favorecer una migración uniforme a través de la fina estructura reticular de la tira. Para ello, en el momento del análisis electroforético se han llevado a cabo las siguientes dilucciones:

1.- Enzimas AK1, CA2, ESD, PGD, PGM1 y PGM2: se han elaborado alicuotas 1:1 con agua destilada,

2.- Enzimas ACP1, ADA y GLO1: se han hecho alicuotas 2:1 con ß-mercaptoetanol, porque mantiene los grupos sulfidrilo de forma reducida, evitando la formación de puentes disulfuro, que provocarían la formación de bandas secundarias inespecíficas,

3.- Enzima G6PD, se han diluido 1:1 con NADP 10μM, con el fín de que se estabilice la forma oligomérica de la enzima, y evita el desdoblamiento de las bandas que se provocan cuando existen contemporaneamente formas dímeras y tetrámeras.

A continuación, los hematies diluidos se centrifugaron a 12000 rpm durante unos pocos segundos, con el fín de que sedimenten las membranas (centrifuga mod. *Biofuge A (Heraeus Sepatech, Kalkberg, Alemania)*. Con este procedimiento, tenemos ya preparados los hemolizados para su aplicación elctroforética.

D.2.2.3. MIGRACION ELECTROFORETICA Y REVELADO

Para todas las enzimas, a excepción, de la AK1 y CA2, que se aplican en el ánodo, se deposita la muestra (cerca de 1,5 μl en 9 mm de ancho) en la extremidad catódica de la tira, mediante un aplicador múltiple semimicro.

Las técnicas utilizadas son las que aparecen en la Tabla D.2, con ligeras modificaciones que se especifican en las Tablas D.3 - D.11 donde se señalan los tampones de migración, las condiciones electroforéticas, la mezcla de revelación utilizados, el patrón de bandas electroforético y el esquema de la coloración para cada enzima.

Tabla D.2.- *Técnicas utilizadas para llevar a cabo las electroforesis enzimáticas.*

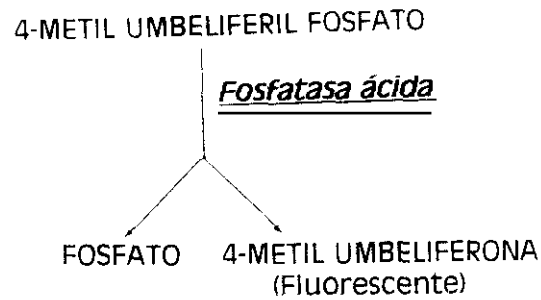
ACP1	Hopkinson *et al.*, (1963)*
ADA	Spencer *et al.*, (1968)*
AK1	Spielmann y Kühnl (1982)
CA2	Noppinger y Morrison (1981)
ESD	Hopkinson *et al.*, (1973)*
PGD	Fildes y Harris (1966)*
PGM1	Spencer *et al.*, (1964a)*
PGM2	Spencer *et al.*, (1964a)*
GLO1	Meera Khan y Doppert (1976) y modificada por Ranzani *et al.*, (1979)
G6PD	Betke *et al.*, (1967)

* Modificadas por los Laboratorios Chemetron.

Los tipos de hemoglobina se han determinado al mismo tiempo que se realizaba la electroforesis de la G6PD.

Tabla D.3.- *ACP1. FOSFATASA ACIDA ERITROCITARIA (E.C. 3.1.3.2.)*

Tampón de migración	Fosfato-citrato pH 6.4
Voltaje	200 v
Tiempo	90 minutos
	Migración anódica
Tinción	5 ml tampón Citrato 0,1M pH 6,0 10 mg 4-metil-umbeliferil fosfato Se visualiza a la luz UV de 350 nm, después de 15 minutos de incubación en estufa a 37°C.



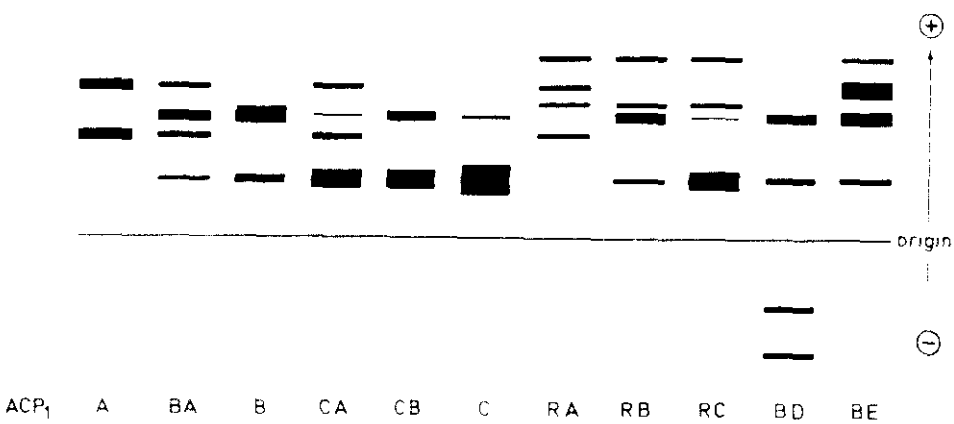
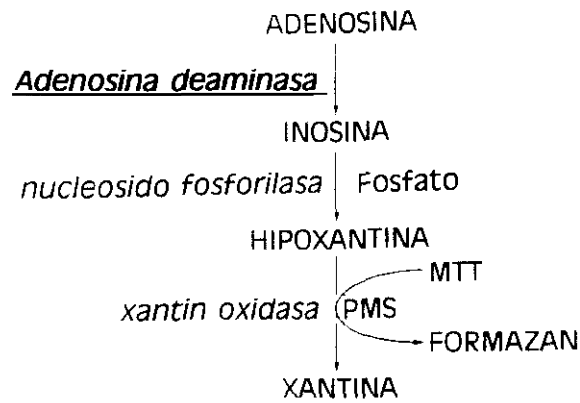


Tabla D.4.- *ADA. ADENOSINA DEAMINASA (E.C. 3.5.4.4.)*

Tampón de migración	Fosfato 0,14M pH 6.25
Voltaje	230 v
Tiempo	75 minutos
	Migración anódica
Tinción	5 ml tampón Tris-HCl 0,1M pH 8,0
	24 mg Adenosina
	6 mg MTT
	25 µl Xantinoxidasa
	25 µl Nucleosidofosforilasa
	Lectura a la luz visible, después de 15 minutos de incubación en estufa a 37°C.



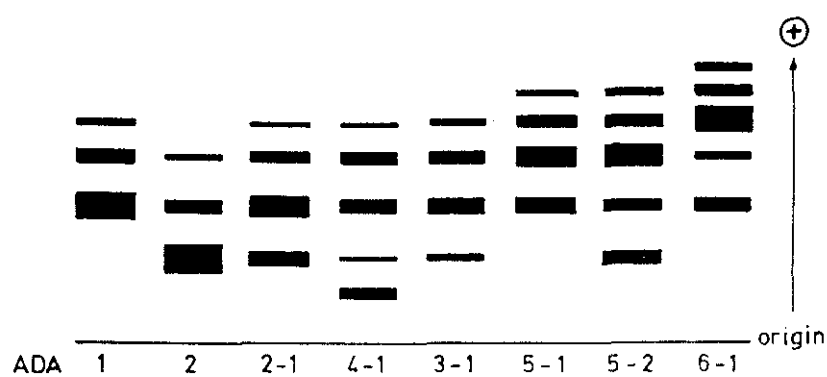


Tabla D.5.- *AK1. ADENILATO QUINASA (E.C. 2.7.4.3.)*

Tampón de migración	Fosfato 0,14M pH 6,25
Voltaje	280 v
Tiempo	65 minutos
	Migración catódica
Tinción	5 ml tampón Tris-$MgCl_2$ pH 7,9
	75 mg Glucosa
	15 mg ADP
	5 mg NADP
	2,5 mg PMS
	2,5 mg MTT
	10 µl G6PD
	10 µl Hexokinasa
	Lectura a la luz visible, después de 5 minutos de incubación en estufa a 37°C.

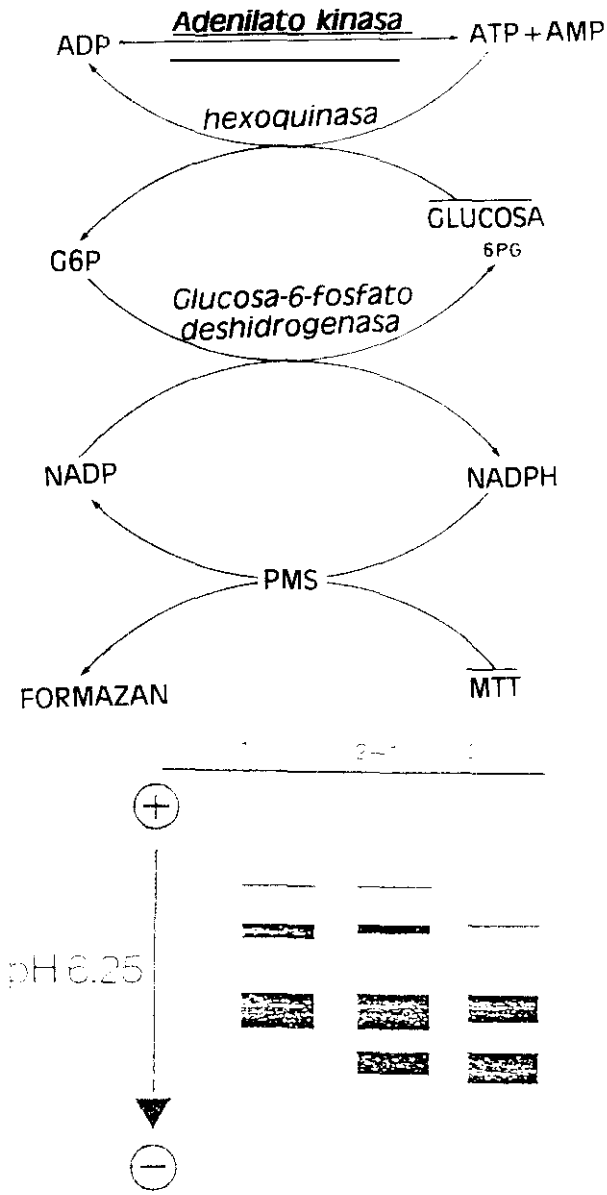
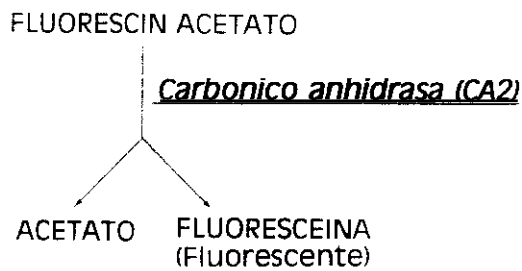


Tabla D.6.- *CA2. CARBONICO ANHIDRASA 2 (E.C. 4.2.1.1.)*

Tampón de migración	Tris-Glicina pH 8,5
Voltaje	350 v
Tiempo	60 minutos
	Migración catódica
Tinción	20 ml de tampón Fosfato pH 6,9
	0,2 g Agar
	15 mg Fluorescindiacetato
	2 ml Acetona
	Lectura a luz UV de 350 nm, después de 20 minutos de incubación estufa a 37°C.



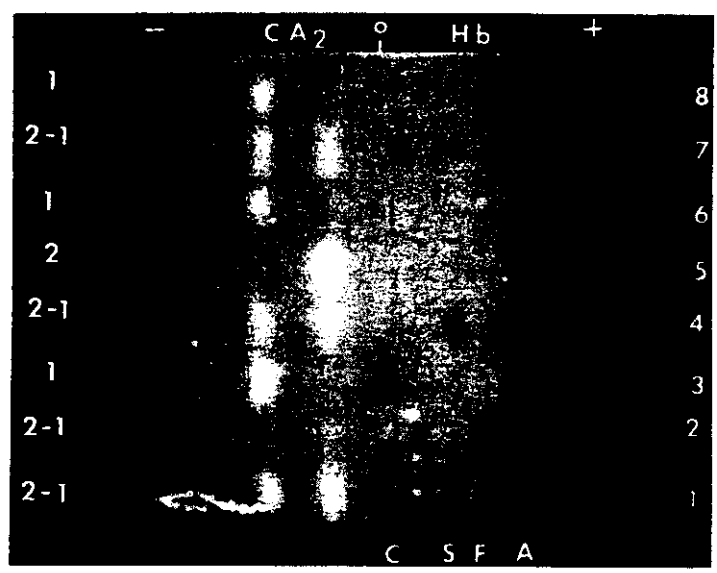
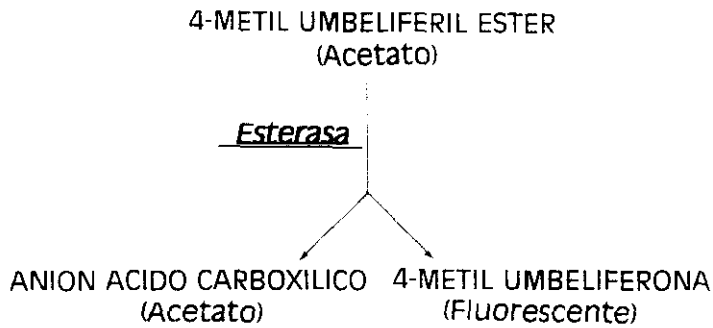


Tabla D.7.- *ESD. ESTERASA D (E.C. 3.1.1.1.)*

Tampón de migración	Tris-citrato 0,1M pH 7,5
Voltaje	200 v
Tiempo	60 minutos
	Migración anódica
Tinción	5 ml tampón Acetato 0,2M pH 5,2
	3 ml Acetona
	30 mg 4-metil-umbeliferil acetato
	Lectura a luz UV de 350 nm, después de 5 minutos de incubación en estufa a 37°C.



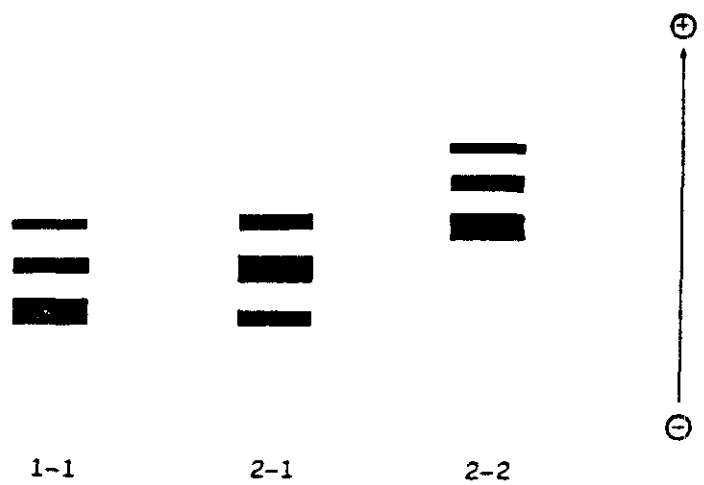
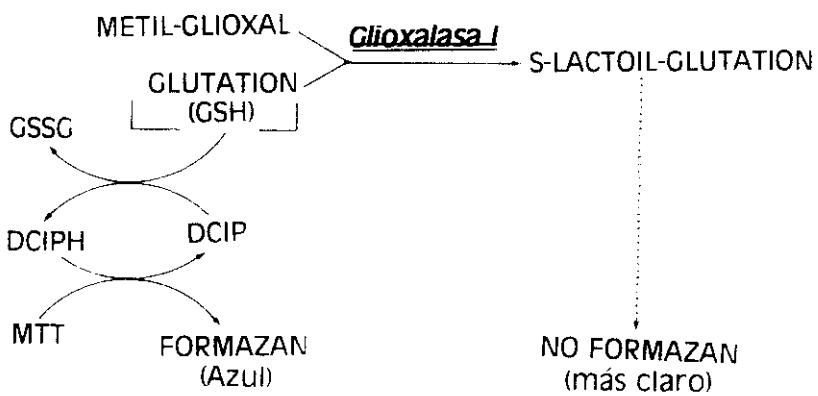


Tabla D.8.- *GLO1. GLIOXALASA 1 (E.C. 4.4.1.5.)*

Tampón de migración	Tris-Acido dietil-barbitúrico 0,03M pH 8,0
Voltaje	230 v
Tiempo	75 minutos (La hemoglobina debe migrar aproximadamente 2 cm) Migración anódica
Tinción	Solución I: 2,4 ml tampón Fosfato 0,1M pH 6,5 1 ml MTT (10 mg/ml) 36 mg GSH 150 µl metil-glioxalato Solución II: 2,7 ml tampón Tris-HCl 0,1M pH 7,8 0,7 ml dicloroindofenol (20 mg/ml). Las tiras se coloran con la solución I durante 1 minuto, se elimina el exceso de colorante y después se revelan con la solución II. Se dejan 5 minutos a 37°C en cámara húmeda.



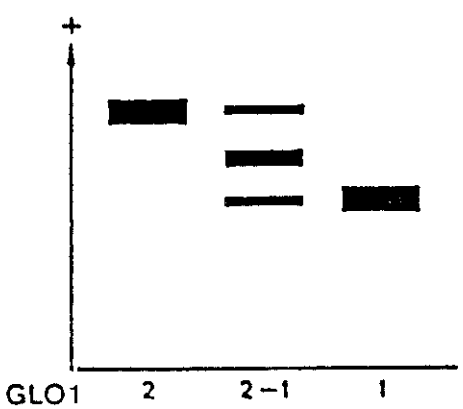
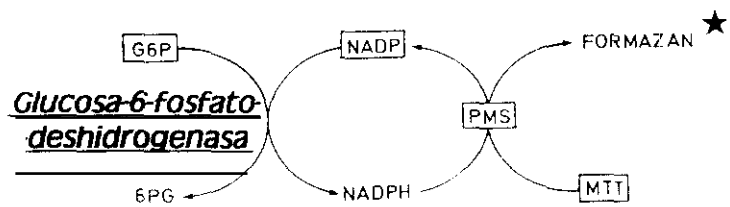


Tabla D.9.- *G6PD. GLUCOSA-6-P DESHIDROGENASA (1.1.1.49)*

Tampón de migración	Tris-Edta-Bórico (TEB) pH 8,6
Voltaje	150 v
Tiempo	90 minutos Migración anódica Poner 100 µl de NADP 10µM en el cátodo.
Tinción	5 ml tampón Tris-HCl 0,1M pH 8,0 5 mg Glucosa 6P 4 mg NADP 2 mg MTT 1 ml PMS 10 mg $MgCl_2$ Lectura a la luz visible, después de 15 minutos de incubación en estufa a 37°C.

Nota: Se realizan tres lavados de las tiras de acetato de celulosa con el tampón de migración, de 15 minutos cada uno. En el tercer baño se añaden 200 µl de NADP 10 µM.



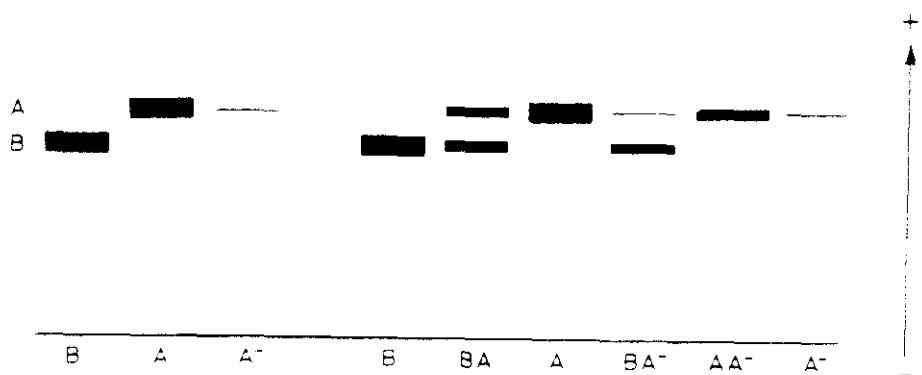
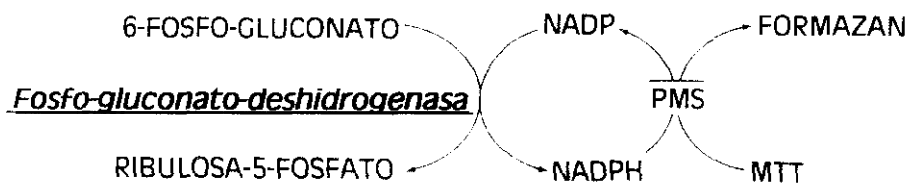


Tabla D.10.- *PGD. FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA (E.C. 1.1.1.44)*

Tampón de migración	Fosfato 0,14M pH 6,25
Voltaje	230 v
Tiempo	60 minutos Migración anódica
Tinción	5 ml tampón Tris-HCl 0,1M pH 7,5 5 mg Gluconato 6P 4 mg NADP 2 mg MTT 1 ml PMS 10 mg $MgCl_2.6H_2O$ Lectura a la luz visible, después de 15 minutos de incubación en estufa a 37°C.



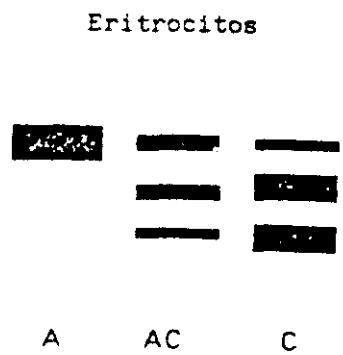
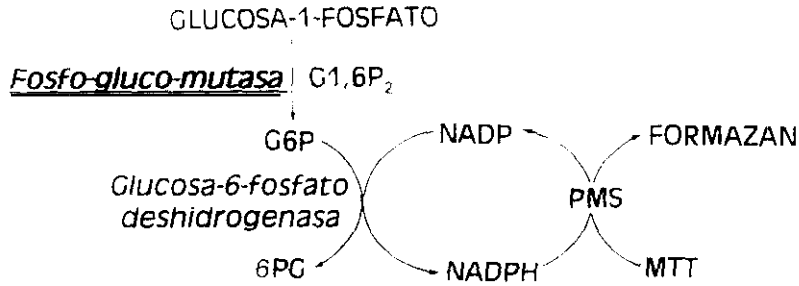
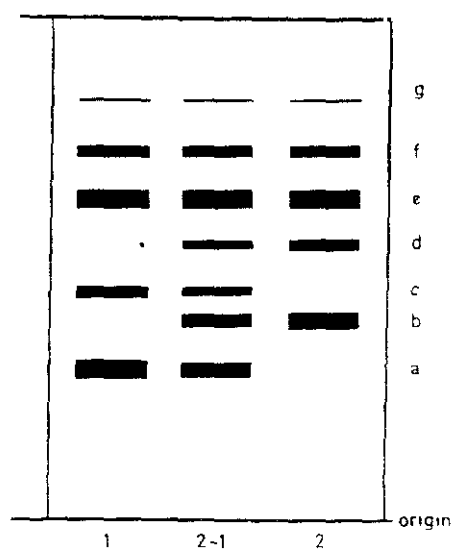


Tabla D.11.- *PGM1 Y PGM2. FOSFOGLUCOMUTASA 1 Y 2 (E.C. 2.7.5.1.)*

Tampón de migración	Tris-acido málico 0,25M pH7,4
Voltaje	230 v
Tiempo	75 minutos
	Migración anódica
Tinción	5 ml tampón Tris-HCl 0,1M pH 8,0
	63 mg glucosa 1P + Glucosa 1,6 di P
	3 mg MTT
	6 mg NADP
	120 mg $MgCl_2.6H_2O$
	15 μl G6PD
	1 ml PMS
	Lectura a la luz visible, después de 15 minutos de incubación en estufa a 37°C.





D.2.3. METODOS DE ISOELECTROENFOQUE

El isoelectroenfoque o isoelectrofocalización para la determinación de los subtipos de PGM1 y para ver su termoestabilidad se efectuó en geles de bisacrilamida con un equipo *mod. "2117 Multiphor II Electrophoresis Unit" y mod. "Multidrive XL" (3.5 power supply) (Pharmacia LKB, Upasala, Suecia)*. Se aplicaron los siguientes ajustes: V = 1200v, 15mA y 15w.

D.2.3.1. SOPORTE PARA EL ISOELECTROENFOQUE

Los geles se prepararon con el *ULTROMOULD GEL CASTING UNIT (Pharmacia LKB, Upsala, Suecia)* utilizando:

0,870 g de acrilamida (LKB)

0,035 g de bisacrilamida (LKB)

1,6 g de sacarosa (Merck)

13,5 ml de H_2O bidestilada

1,5 ml de anfolinas pH 7-5 (LKB)

Se ha llevado a cabo la polimerización con:

40 μl de amonio persulfato 10% (LKB)

20 μl de TEMED (LKB).

El tiempo de polimerización fué de 60 minutos.

La utilización de los geles era inmediata, o bien, se conservaban en frigorífico a 4°C, cubiertos con una película de plástico, no más de 24 horas.

D.2.3.2. SUBTIPOS PGM1: APLICACION, MIGRACION Y REVELADO

La determinación de los subtipos de PGM1 se efectuó según la técnica propuesta por Kühnl y Spielmann (1978).

Para la focalización isoelectrica se emplearon como soluciones electrolíticas NaOH 1N y PO_4H_3 1M para el cátodo y ánodo, respectivamente, con las cuales se empaparon dos tiras de papel Whattman 3MM, que hicieron la función de electrodos una vez puestos sobre el gel. Se hizo una premigración de 60 minutos para la creación del gradiente de pH. Las muestras de hemolizados fueron aplicadas a 1,5 cm del borde catódico (polo negativo) en rectángulos de papel Whatmam 3MM de 3,5 x 9 mm. A los 60 minutos las piezas de papel se retiraron y la focalización se prolongó por otras tres horas. La mezcla de coloración consistió en:

0,100 g de Glucosa 1P

0,005 g NADP

0,005 g MTT

0,005 g PMS

22,5 ml de agar 0,75% en tampón Tris/HCl 0,05M pH 7,5 a 60°C.

4,0 ml de H_2O bidestilada

1,2 ml de $MgCl_2$ 1M

15 μl G6PD

La mezcla de todos estos compuestos se vierten sobre el gel, y se dejan en estufa a 37°C durante 45 minutos, hasta que se comienzan a visualizar las bandas (Figura D.5)

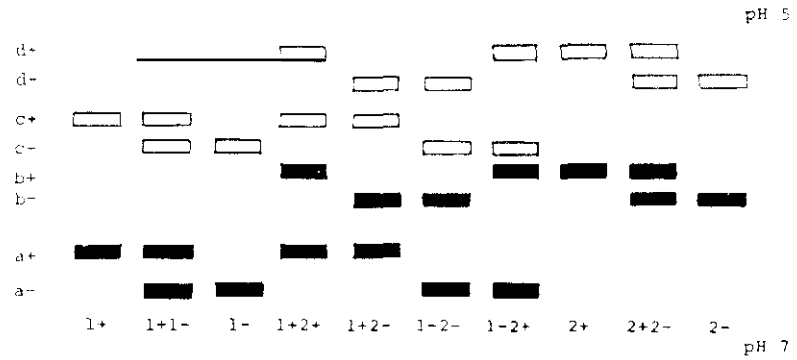


Fig. D.5.- *Patrón de bandas del isoelectroenfoque de la PGM1.*

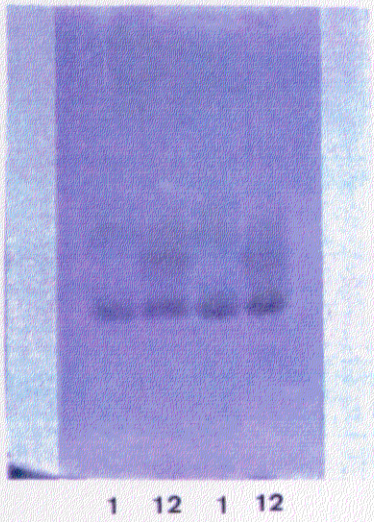
D.2.3.3. TERMOESTABILIDAD DE LA PGM1: HEMOLIZADOS, APLICACION, MIGRACION Y REVELADO

Con el fín de poder determinar si los subtipos eran termoestables/termosensibles, se ha seguido la técnica isoelectroforética según el método propuesto en Scozzari *et al.,* (1984).

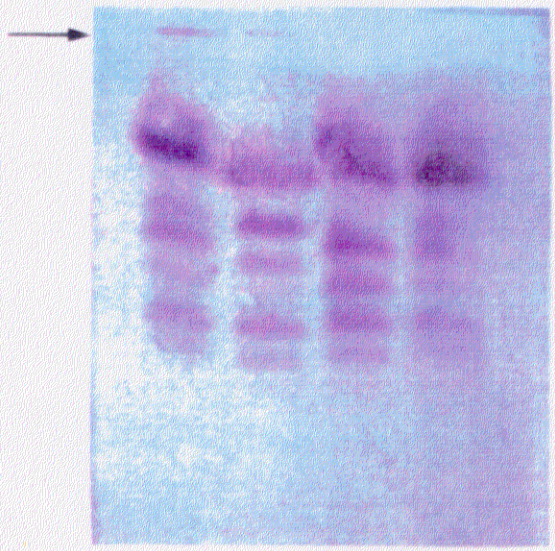
Las muestras de sangre han sido tratadas de la siguiente manera: 100 μl de sangre se pusieron en probetas de vidrio, que fueron calentadas a 60°C durante 20 minutos en un aparato *Multi-Block Heater (Lab-Line Instrument, Illinois, USA)*, y posteriormente puestas en hielo, hasta el momento de tomar las muestras con el trozo de papel.

Dicha muestra tratada se colocaba en el gel, junto a la muestra no tratada, para comparar la intensidad de las bandas.

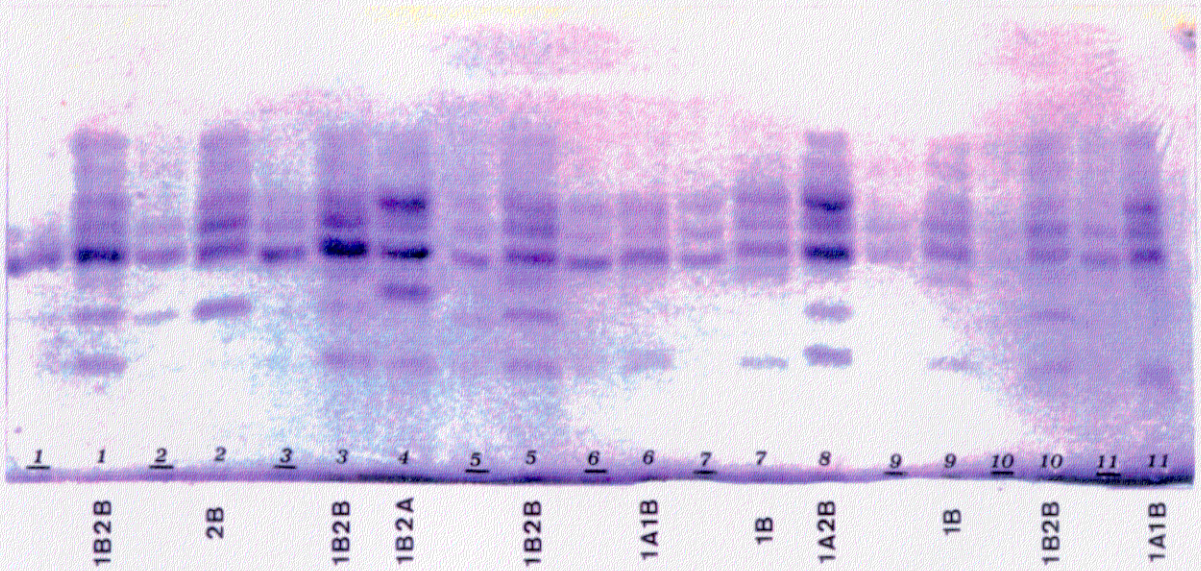
La isoelectrofocalización ha sido llevada a cabo según la técnica propuesta en el apartado anterior.



Patrón electroforético de la AK1

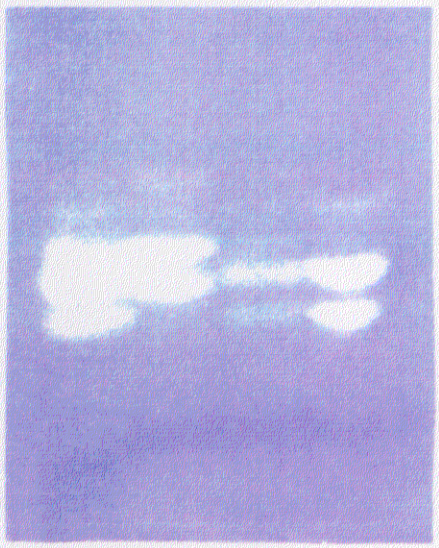


Patrón electroforético de la PGM1 y PGM2

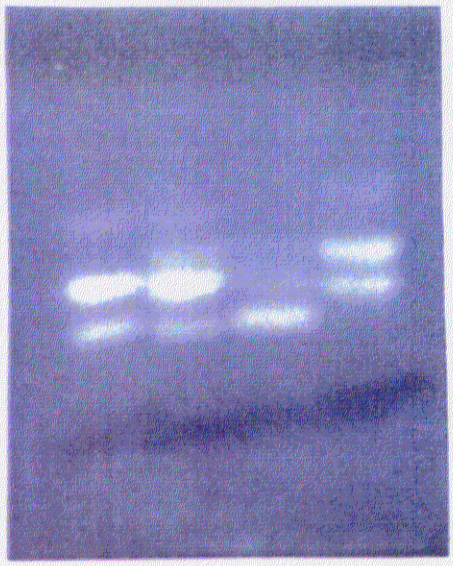


*Patrón de bandas de la enzima PGM1 por medio de IEF, donde se puede apreciar los subtipos PGM1*1A, PGM1*1B, PGM1*2A y PGM1*2B. Algunas de las muestras, presentan a su izquierda, con el mismo número subrayado, el tratamiento para analizar la termosensibilidad, por lo que las bandas aparecen menos intensas.*

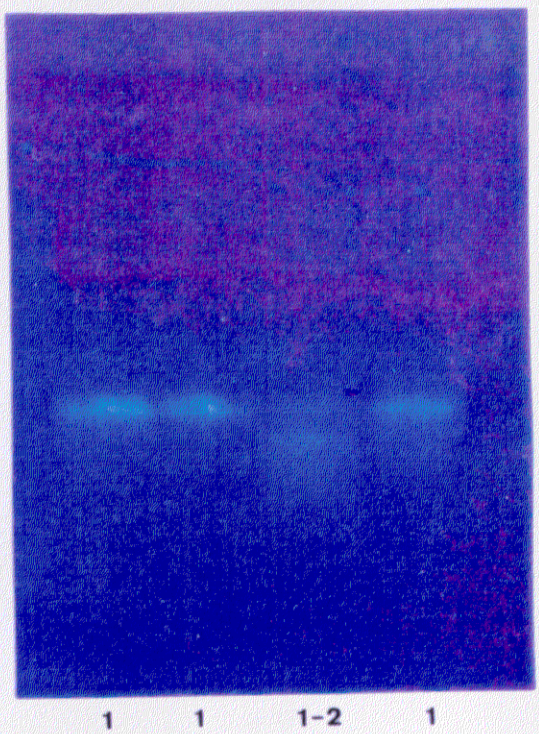
LAMINAS III Y IV: *Patrones de bandas de algunas de las enzimas llevadas a cabo en el laboratorio.*



Patrón electroforético de la ACP1.



Patrón electroforético de la ACP1.



Patrón electroforético de la ESD.

Patrón electroforético de la PGD.

D.2.4. EXTRACCION DEL DNA

Después de llevar a cabo una selección de las muestras, se ha procedido a la extracción del DNA total, a partir de la sangre entera mantenida a -80°C, se ha efectuado antes de pasar un año de la recogida de las muestras.

Dicha selección ha consistido en tomar unicamente los individuos no emparentados, y en el caso de la comunidad de rio Cayapas, aquellos que presentaban apellidos procedentes de las madres distintos -segundos apellidos-, para asegurar distintas lineas maternas.

Todos los tampones, material desechable y de vidrio, han sido previamente tratados en autoclave, para asegurar la esterilidad.

- El procedimiento seguido es el propuesto por Sambrook *et al.,* (1989) que se inicia con la descongelación de la sangre entera.

- Se añade igual volumen de BLB (Blood Lysing Buffer) a pH 8-9:

$MgCl_2$ 1mM

NaH_2PO_4 1 mM pH 6,5

nonidet p40 0,8%

deoxicolato de Na 0,4%

Se añade H_2O hasta un volumen de 1000 ml.

- Se transfiere en un tubo *Corex*, se mezcla por inversión y se mantiene 10 minutos en hielo.

- Se centrifuga a 9000 rpm, a 0-3°C, durante 30 minutos (centrifuga modelo *J2-21 Beckman Instruments, California, USA).*

- Se recupera el sobrenadante, y el "pellet" se resuspende con 10 ml de BLB, teniéndose 10 minutos en hielo.

- Se centrifuga, de nuevo, a 9000 rpm, a 0-3°C durante 20 minutos.

- Se separa el sobrenadante y el "pellet" se resuspende en 10 ml de TNE

. Tris-HCl 10mM pH 8,3

. NaCl 150mM

. EDTA (Na_2) 5mM

- Se pasa a un tubo *Falcon* de polipropileno.

- Se añaden 1 ml de SDS al 10% y 100 μl de proteinasa K (10 mg/ml).

- Se tiene en digestión a "Baño María", durante 75 minutos a 65°C.

- Se añaden 2 ml de $NaClO_4$ 5M y 13 ml de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1).

- Se agita rotatoriamente (agitador planetario *Continental Equipment NDRL. DAS 12000*) durante 20 minutos.

- Se centrifuga 10 minutos a 2700 rpm (centrifuga *Megafuge 1.0 (Heraeus Sepatech, Kalkberg, Alemania)*.

- Se separa la fase orgánica de la acuosa.

- El sobrenadante se pasa a otra probeta *Falcon* y se añaden 13 ml de cloroformo-isoamílico (24:1) y se repite el paso previo dos veces.

- El sobrenadante se transfiere a un vaso de precipitados, y se añade el doble del volumen de etanol absoluto a 0°C, precipitando así el DNA. Este se recoge con una varilla de vidrio por rotación.

- Una vez obtenido todo el DNA, se deja secar en la varilla, al aire durante 2 minutos, y se introduce dicha varilla en un tubo *Falcon* de 5 ml, que contiene 1 ml de Roberts Buffer:

. Tris-Hcl 6 mM pH 8,3

. Nacl 6 mM

. EDTA (Na_2) 0,6 mM.

- Se deja en agitación rotatoria toda la noche.

- Al día siguiente, se centrifuga a 2000 rpm durante 5 minutos, y se recoge la solución en una probeta *Eppendorf*.

- Se procede a la lectura en un espectrofotómetro (*Hitachi U 2000*) a longitudes de onda de 260 nm y 280 nm, calculándose la relación DO 260/ DO 280, y calculándose la cantidad de DNA en ese ml de solución, con una relación de 2500 x DO 260, debido a que la densidad óptica (DO) de un fragmento de DNA a 260 nm es 50 y el factor de dilucción empleado es de 50.

D.2.5. AMPLIFICACION DEL DNA

Para evaluar la presencia de la delección en la región V se ha procedido a la amplificación de este segmento del DNA mitocondrial por el método de la PCR (Polymerase Chain Reaction) (Saiki et al., 1985, Mullis et al., 1986; Innes et al., 1990) mediante el aparato *LEP Scientific PREM*, utilizando la enzima Taq Polymerasa de *Termus acquaticus (Perkin Elmer Cetus)* y los primers que señala Wrischnik *et al.,* (1987):

5' ATGCTAAGTTAGCTTTACAG 3'

5' ACAGTTTCATGCCCATCGTC 3'

Las amplificaciones se han obtenido en 25 μl de mezcla total, utilizando:

. DNA 10 pM

. Primer I 10 pM

. Primer II 10 pM

. Tampón de amplificación

. 0,670 M Tris pH 8,8

. 0,067 M $MgCl_2$

. 0,166 M $AmSO_4$

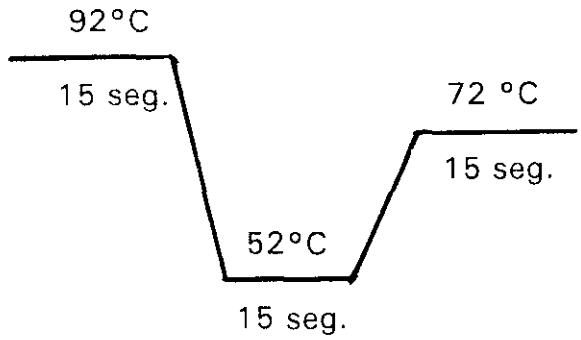
. 0,100 M ß-mercaptoetanol

. dNTPs

. Taq Polimerasa

. H_2O bidestilada

Las condiciones de amplificación son:



30 ciclos, seguidos de un ciclo final de 10 minutos a 72°C.

Para visualizar la posible presencia de la delección se ha procedido a la electroforesis de los fragmentos amplificados en un gel de agarosa "*Low melting*" (NuSieve) al 6%, usando tampón TAE:

. 0,04 M Tris Acetato

. 0,001 M EDTA

Todos los productos amplificados se han migrado junto a un "*DNA molecular-weight marker V" (Boehringer Mannheim)* con el fín de confirmar la especificidad del producto amplificado.

Las electroforesis se han llevado a cabo usando un *Mini Sub™ DNA Electrophoresis Cell (Bio-rad, California, USA).*

Por último, la visualización de la electroforesis de los productos amplificados, se ha realizado por tinción con bromuro de etidio, y posterior lectura a luz UV de 350 nm.

D.3. METODOS ESTADISTICOS

D.3.1. CALCULO DE LAS FRECUENCIAS GENICAS

Tratándose de sistemas que se adaptan a un modo de herencia de tipo mendeliano, determinados por alelos codominantes, el cálculo de las frecuencias génicas ha sido efectuado por el método del "recuento directo de los genes".

Dado que las muestras examinadas incluyen individuos emparentados, las frecuencias fenotípicas se han calculado sobre los sujetos no relacionados. Las frecuencias esperadas para verificar la condición de equilibrio de la población según la hipótesis de Hardy-Weinberg se han calculado a partir de las frecuencias génicas obtenidas según el método propuesto por Guglielmino y Zei (1979), mediante el cual los individuos no relacionados por parentesco, se han considerado como portadores de dos genes independientes. Además, respecto a los grupos emparentados (Tabla D.1, pagina 177), se ha considerado uno de sus componentes (el que poseía el número más alto del protocolo) como portador de dos genes independientes, mientras que en el segundo miembro de la pareja se ha tenido en cuenta la contribución génica siguiente:

RELACION DE PARENTESCO	*GENES INDEPENDIENTES*
pareja padre/madre-hijo/a	1
pareja de hermanos	1
pareja de medios hermanos	1,5
pareja tio/a-sobrino/a	1,5
pareja abuelo/a-nieto/a	1,5

El número N de genes independientes, así obtenido, se ha utilizado para calcular las frecuencias génicas por el método previamente indicado y su error standard. Este método ha sido aplicado en numerosas ocasiones para muestras con una problemática similar a la que se presenta aquí y, ejemplos aparecen en Santachiara-Benerecetti *et al.,* 1980; Biondi *et al.,* 1983; Rickards *et al.,* 1986.

Se ha calculado el error standard correspondiente para los alelos polimórficos, según la fórmula:

$$S = \pm\sqrt{\frac{p(1-p)}{N}}$$

donde p es la frecuencia de un determinado alelo y N es el número de alelos independientes, estimados según el método ya descrito.

En el caso de que la frecuencia de un alelo sea igual a cero, el valor de S se calculó según Morpurgo *et al.,* (1983) con aplicación de la fórmula:

$$\pm\frac{1}{N}$$

D.3.2. EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG

Se ha verificado, en los casos en los que ha sido posible, el equilibrio de Hardy-Weinberg. Así, se considera que en una población, las frecuencias genotípicas están en equilibrio de Hardy-Weinberg si se relacionan con las frecuencias génicas según una simple relación cuadrática de un binomio (considerando loci dialélicos como sucede con las enzimas ACP1 -en nuestra muestra al no existir ni el alelo ACP1*C ni ACP1*R-, ADA, AK1, CA2, ESD, GLO1, PGD, PGM1 y PGM2) o de un polinomio (considerando loci con 3 o más alelos como la Hbß). Por la prueba estadística de χ^2 es posible valorar si las diferencias entre las clases genotípicas observadas y esperadas, estas últimas calculadas a partir de las frecuencias génicas observadas por una simple relación cuadrática, son debidas, con un cierto grado de verosimilitud, al efecto del azar (Rohlf y Sokal, 1969; Sokal y Rohlf, 1979).

La distribución de χ^2 es una distribución continua, en la cual las variables toman sólo valores positivos; se trata de una familia de distribuciones en función de los grados de libertad, que en este caso se calculan restando al número de clases fenotípicas, relativas al marcador considerado, el número de alelos para ese locus. Se ha establecido el valor del 5% como límite para considerar la significación de las diferencias entre las frecuencias genotípicas observadas y esperadas de manera que por encima de este valor se estima una actuación importante del azar, mientras que, por debajo de ese 5%, las diferencias serán significativas por la posible actuación de otros factores tales como la deriva genética, migraciones, selección, etc...

D.3.3. χ^2 DE HETEROGENEIDAD

Se ha verificado la heterogeneidad genética entre ambas comunidades afro-americanas para cada marcador, usando el test de χ^2, en el cual, por una tabla de contingencia se observa el grado de igualdad de las proporciones observadas en ambas comunidades. El número de grados de libertad es igual al número de columnas menos uno por el número de filas menos uno.

B.4.4. CALCULO DE F_{st}

El estadístico F_{st} de Wright (Wright, 1965; 1969) se usa para cuantificar la heterogeneidad de las frecuencias alélicas entre las distintas poblaciones o subpoblaciones regionales de estas. Es una varianza estandarizada de las frecuencias alélicas y se expresa como

$$F_{st} = \frac{1}{A} \sum_{k=1}^{A} \frac{\sigma_k^2}{P_k(1-P_k)}$$

donde A es el número total de alelos, P_k es la media aritmética de la frecuencia alélica en un grupo entero, y σ_k^2 es la varianza observada en la distribución de las frecuencias alélicas, y p(1-p) es el valor teórico máximo de σ^2. Esta significación de las diferencias entre los valores de Fst para distintos pares de poblaciones se puede evaluar por un test no paramétrico, llamado de Wilcoxon (Barbujani, 1985), si bien en nuestro caso, hemos utilizado los intervalos de confianza que señala Wright (1978).

Nei y Chakravarti (1977) notan que el estadístico Fst asume un número infinito de subpoblaciones, pero cuando el número es pequeño la varianza de Fst

debida a los efectos de deriva llega a alcanzar valores muy altos. Por esto, cuando se hacen este tipo de análisis interesa utilizar el mayor número posible de loci y así, el error de la varianza disminuye.

Nei (1977) incluyó una modificación al modelo de Wright, que consiste en hacer la media ponderada de F_{st} para los distintos alelos y así, se resuelve el problema de que solo se pueda aplicar a locus bialélicos.

Hay que tener cuidado al interpretar los distintos valores de Fst, porque:

1) El tamaño de las subdivisiones puede cambiar grandemente el valor de Fst, y en general, cuanto más pequeñas sean las unidades del total de la población más alto es el valor de F_{st}, debido a que son más homogéneas.

2) Otro error es comparar las poblaciones de gran tecnología con otros pequeños grupos "primitivos", como son los Yanomama, Bundi de Nueva Guinea o la población de Bougainville. Los grupos más "avanzados" tienden a definir fronteras políticas y a menudo abarcan diversidad social y cultural .

3) Hay que tener en cuenta los distintos tamaños de las muestras.

Todos estos factores juntos pueden provocar diferencias en los valores de Fst observados en las poblaciones (Jorde, 1980).

D.3.5. ANALISIS DE CORRESPONDENCIAS

Las relaciones genéticas entre las distintas comunidades afro-americanas y las poblaciones parentales ha sido llevada a cabo por el análisis de correspondencias de Benzecri (1973) usando los procedimientos CORRESP y MXPLOT del paquete NTSYS-pc (Rohlf, 1988). Este análisis estadístico multivariado es un método para describir de forma sintética tablas de datos cualitativos (tablas de contingencia) mediante su proyección en un espacio pequeño de pocas dimensiones, minimizando la pérdida de información. Por lo tanto, este método puede ser descrito como un algoritmo para reducir el espacio de representación de datos que proporcionan las imágenes simplificadas de la realidad multidimensional. Además, este análisis, permite describir las relaciones espaciales que existen entre las filas y las columnas de las tablas de contingencia analizadas, que en este caso, son las frecuencias génicas y las poblaciones.

Se calculan las variabilidades lineares compuestas (factores) que presentan la máxima potencialidad para describir las relaciones existentes entre los datos, concentrandose en la variabilidad. El primer factor es una combinación lineal, estadisticamente independiente, de la variabilidad original, que contiene la máxima variabilidad total presente en el set completo de las variables. Los factores sucesivos son combinaciones lineares, reciprocamente independientes y que explican la cantidad, proporcionalmente decreciente, de la variabilidad residual existente entre los datos. El número máximo posible de factores es igual al número de filas o de columnas de la tabla de contingencia menos uno.

Si consideramos a las frecuencias relativas y marginales como:

$$f_{ij} = \frac{n_{ij}}{n}$$

$$f_{i.} = \frac{n_{i.}}{n}$$

$$f_{.j} = \frac{n_{.j}}{n}$$

se define la distancia χ^2 entre dos elementos de las filas como:

$$d^2(b_i; b_{i'}) = \sum_{j=1}^{s} \frac{1}{f_{.j}} \left[\frac{f_{ij}}{f_{i.}} - \frac{f_{i'j}}{f_{i'.}} \right]^2$$

y analogamente se tendrá entre dos elementos de las columnas:

$$d^2(a_j; a_{j'}) = \sum_{i=1}^{r} \frac{1}{f_{i.}} \left[\frac{f_{ij}}{f_{.j}} - \frac{f_{ij'}}{f_{.j'}} \right]^2$$

En la representación gráfica, la similitud entre dos poblaciones, o la asociación entre dos genes, estan correlacionadas linealmente con sus distancias relativas. Cada población está cercana a los genes para los cuales esta presenta altas frecuencias. Los genes que se situan cerca del origen de los ejes no resultan informativos porque presentan valores de frecuencia muy similares entre todas las poblaciones.

Este método proporciona también datos analíticos que contribuyen a la interpretación del gráfico:

1.- las contribuciones absolutas, que informan del valor de variabilidad que puede ser explicado para cada simple elemento, sea una población o una frecuencia génica, en el interior de la variabilidad explicada por un factor;

2.- las contribuciones relativas, que indican el valor de variabilidad que puede

ser atribuida a cada factor en la explicación de la variabilidad de un elemento.

En otras palabras, las contribuciones absolutas dan la contribución de cada punto a la individuación del eje, y las relativas indican cuanto un punto está bien representado en cada eje (Greenacre y Degos, 1977; Cuadras, 1981; Lebart *et al.*, 1984; Greenacre *et al.*, 1984; Rizzi, 1985).

D.3.6. ANALISIS DE DISTANCIAS GENETICAS:

El cálculo de distancias genéticas permite dar una estima del grado de diferenciación genética entre las poblaciones. Están basados en tres tipos de análisis: distancias de χ^2 como son el método de Sanghvi, Morton o Harpending y Jenkins; distancias basadas en trasnformaciones angulares como son las de Edwards y Cavalli-Sforza; o basadas en las sustituciones génicas como es la de Nei (Lalouel, 1980; Jorde, 1985).

En este estudio se ha llevado a cabo un análisis de distancias genéticas. Para dicho análisis se han empleado los coeficientes de Nei (1972), Prevosti (Wright, 1978), Cavalli-Sforza y Edwards (1967) y Edwards (1971; 1974). A partir de los datos proporcionados por la matriz de distancias genéticas se ha construido el dendrograma correspondiente mediante la aplicación del algoritmo UPGMA (Sneath y Sokal, 1989), usando el paquete estadístico BIOSYS-1.pc (release 1.7, Swofford y Selander, 1989).

D.3.6.1. DISTANCIA GENETICA DE NEI (1972).

Nei propone una serie de distancias genéticas definidas en base al número acumulado de sustituciones nucleotídicas de un loci, detectadas por métodos electroforéticos, desde que dos poblaciones divergen entre sí de una ancestral común. A diferencia de otros modelos que asumen la deriva pura, en este método se incorpora la mutación, asumiendo equilibrio entre la deriva y la mutación. Esta estima tiene la ventaja de que si la tasa de sustitución es constante en el tiempo, está relacionada linealmente con el tiempo de evolución, y en los modelos con migración, está relacionada linealmente con la distancia geográfica o área.

Si se consideran dos poblaciones x e y, con individuos diploides, apareamiento al azar, y loci multialélicos; se definen x_i e y_i las frecuencias de los i alelos en x e y, respectivamente.

La probabilidad de que dos alelos cogidos al azar de la población, sean idénticos es:

$$j_x = \sum x_i^2$$

$$j_y = \sum y_i^2$$

Asimismo, la probabilidad de elegir dos alelos idénticos por descendencia de un loci dado, uno de la población x y otro de la y, es:

$$j_{xy} = \sum x_i y_i$$

Si no hay selección y cada alelo es derivado por una mutación simple en una generación ancestral, los valores esperados de j_x y j_y son igual al coeficiente de *inbreeding* de Wright en X e Y respectivamente, mientras que j_{xy} es igual al coeficiente de parentesco de Malecot.

La identidad normalizada de los genes, entre x e y, con respecto al locus, es definido como:

$$I_j = \frac{j_{xy}}{\sqrt{j_x J_y}}$$

este valor es una correlación, por lo que va a tener valores que oscilan entre

0 y 1; siendo máximo cuando las dos poblaciones tienen los mismos alelos con frecuencias idénticas, y cero cuando no tienen alelos en común.

La identidad normalizada de genes entre *x* e *y* con respecto a todos los loci es definido como

$$I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x J_y}}$$

donde J_x, J_y y J_{xy} son las medias aritméticas de j_x, j_y y j_{xy} respectivamente, de todos los loci, incluyendo los loci monomórficos.

La distancia genética entre la población *x* e *y* se define como:

$$D = -\log_e I$$

Dicho valor es apropiado si la tasa de sustitución es el mismo en todos los loci, porque D mide el número acumulado de sustituciones alélicas por loci. La varianza interlocus es más alta que la varianza intralocus (a no ser que el tamaño de la muestra sea extremamente pequeño), la varianza será más baja si se añaden más loci en vez de si se añaden más individuos (Jorde, 1985). Este método es criticado porque no son distancias métricas (no satisfacen el triangulo desigual: para poblaciones *i, j, y k, d(i,j) ≤ d(i,k) + d(j,k)* donde d es la distancia entre parejas de poblaciones). Esto solamente ocurre cuando se utiliza un número pequeño de loci, y si se utiliza un número de loci suficiente las distancias son asintoticamente métricas.

D.3.6.2. DISTANCIA GENETICA DE PREVOSTI (WRIGHT, 1978).

Es un indice de distancia que expresa directamente el grado de diferenciación entre pobalciones, y es independiente de los valores de frecuencias que se comparan, del número de alelos por locus y de los factores que han determinado la diferenciación.

Se calcula a partir del valor absoluto de las diferencias entre las frecuencias alélicas de dos poblaciones *X* e *Y*:

$$D=\frac{1}{2j}\sum_{1}^{j}\sum_{1}^{i}[pX(jk)-pY(jk)]$$

donde *pX(jk)* son las frecuencias del alelo *K* del locus *j* en la población *X*.

D.3.6.3. DISTANCIA DE EDWARDS (1971, 1974) Y ARCO DISTANCIA DE CAVALLI-SFORZA Y EDWARDS (1967).

Son medidas de distancias genéticas que usan una transformación angular de las frecuencias génicas para conseguir varianzas de las frecuencias génicas independientes de las frecuencias en sí mismas. Se ajustan a un modelo de evolución en el cual las frecuencias génicas cambian de acuerdo con el proceso de deriva.

Para evitar la dependencia del error de muestreo se hace la transformación

$$Cos\theta=\sum_{k=1}^{m}\sqrt{p_{iA}p_{iB}}$$

para medir la similitud genética entre dos poblaciones A y B, donde p_{iA} y p_{iB} son las frecuencias alélicas del locus dado en las poblaciones A y B, extendiendose la suma a todos los alelos de cada locus; así solamente dependen del número de genes

considerados.

La representación de estas nuevas variables en el espacio son aproximadamente normales con una simetría esférica.

Como la suma de las frecuencias de un locus es la unidad, cada una de ellas estará representada por un punto sobre la superficie de un octante. El ángulo formado entre los radios correspondientes de las poblaciones es θ, y la distancia genética se podrá definir como

$$d_{ij}=\arccos\sum_{k=1}^{m}\sqrt{p_{ik}p_{jk}}$$

lo cual en términos geométricos es proporcional a la cuerda sustentada por el ángulo.

El coeficiente de proporcionalidad se puede elegir según el propósito del análisis. Los autores utilizan una cantidad que tiene el valor de la unidad en el caso de que la sustitución génica sea completa.

Como dicha distancia no es euclídea, los autores aconsejan hacer la aproximación a la longitud de la cuerda que viene dada por la ecuación:

$$cuerda(i,j)=\sqrt{1-\sum_{k=1}^{m}\sqrt{p_{ik}p_{jk}}}$$

Otra transformación euclídea consiste en la proyección estereográfica en un plano tangente a la región de la hiperesfera ocupada por lo puntos que presentan a las poblaciones, que se define como:

$$E_{ij}^2 = \frac{8[1 - \Sigma_k \sqrt{p_{ik} p_{jk}}]}{[1 + \Sigma_k \sqrt{p_{ik}/m}][1 + \Sigma_k \sqrt{p_{jk}/m}]}$$

Estos modelos son a menudo criticados porque las transformaciones no logran proporcionar independencia en las frecuencias génicas extremas ($p < 0,05$ y $p > 0,95$). A partir de este modelo de deriva se asume igual tamaño para todas las poblaciones, y por lo tanto no es apropiado cuando la diferencia entre los tamaños de muestras es grande.

D.3.6.4. ALGORITMO UPGMA

A partir de las matrices de distancias genéticas se han obtenido los dendrogramas usando el algoritmo UPGMA (Unweighted pair-group method using arithmetic averages, media aritmética de grupos de pares no sopesados) que es una técnica de agrupación aglomerativa (Sneath y Sokal 1973).

Consiste en agrupar dos poblaciones (OTUs que son unidades taxonómicas operativas) cuyas distancias genéticas son las menores. La nueva distancia entre este par y el resto no agrupado será, la media aritmética de las dos que han sido agrupadas antes de la formación del cluster, respecto del resto. Este proceso se repite el número de veces necesario hasta que todas las poblaciones se agrupen.

La bondad de ajuste entre la matriz de distancias genéticas y la representación gráfica se mide por los estadísticos:

1) ***f*** (Farris, 1972)

$$f=\Sigma|D_{ij}-D_{ij}|$$

es el sumatorio de las diferencias entre las distancias de entrada y de salida, en valor absoluto, siendo D_{ij} la distancia de entrada de los OTUs *i* y *j*, y D'_{ij} la distancia de salida de los mismos.

2) ***F*** (Prager y Wilson, 1976) que expresa en porcentaje las diferencias de los valores de entrada y de salida en función del total de los valores de entrada.

$$F=\frac{f}{\Sigma D_{ij}}100$$

3) ***El coeficiente de correlación cofenética (r_c):*** oscila entre 0 y 1, siendo máxima cuanto mejor sea el ajuste de la representación con la matriz de distancias genéticas, ya que expresa el coeficiente de correlación entre los

$$n(n-1)/2$$

pares de distancias de entrada y salida (Sneath y Sokal, 1973).

D.3.7. ESTIMA DEL MESTIZAJE

Se ha estimado la proporción de mestizaje presente en ambas comunidades afro-americanas por el método propuesto por Krieger *et al.*, (1965), usando el programa para ordenador PC- compatible MISTURA.

Dicho método que basa el cálculo del flujo génico aplicando la máxima verosimilitud ("maximum-likelihood") ofrece las estimas más fiables cuando el error de muestreo en las frecuencias parentales no es grande (Korey, 1978).

Se puede utilizar para sistemas con dominancia o sin ella, dado que hace el cálculo de las frecuencias génicas a partir de las frecuencias fenotípicas tomando como base las de las poblaciones parentales.

Si se considera un locus G con alelos G^1, G^2,...G^k, la probabilidad de un fenotipo determinado será:

$$P(\Phi)=\sum_{i,j=1}^{k} C_{ij}p_ip_j$$

El número observado de individuos de fenotipo ϕ en el grupo racial es m_Φ. Asumiendo que la ley de Hardy-Weinberg y que los matrimonios no son seleccionados:

c_{ij} = 0 si G^iG^j no está contenido en el fenotipo ϕ

c_{ij} = 1 si $i = j$ y G^iG^j no está contenido en el fenotipo ϕ

c_{ij} = 2 si $i \neq j$ y G^iG^j no está contenido en el fenotipo ϕ.

Al considerar N, C e I como las proporciones de componente negroide, caucasoide e indígena (N + C + I = 1), p_{iN}, p_{iC}, p_{iI}

son las frecuencias de G^i en las poblaciones ancentrales, y se supone que se conocen sin error. Considerando que no existe ni deriva ni selección en la población

híbrida:

$$p_i = Np_{iN} + Cp_{iC} + Ip_{iI}$$

Se calculan las derivadas parciales del logaritmo de P(ϕ) con respecto a N, C e I,

$$u_* = \sum_{i=1}^{k} \frac{\partial \ln P(\Phi)}{\partial p_i} \frac{\partial p_i}{\partial N}$$

siendo * : N, C o I. Si se considera que

$$\partial p_i / \partial N = p_{iN}$$

$$u_* = \sum_{i=1}^{k} p_{iN} \frac{\partial \ln P(\Phi)}{\partial p_i}$$

y al aplicar la teoría de la máxima verosimilitud e imponer la restricción de que C = 1-N-I, se transforman las derivadas parciales a derivadas simples, obteniendose

$$u^N = u_N - u_C = \sum_{i=1}^{k} \frac{\partial \ln P(\Phi)}{\partial p_i} (p_{iN} - p_{iC})$$

igualmente

$$u^I = u_I - u_C$$

al hacer la suma de todos los fenotipos por la máxima verosimilitud:

$$U_N = \sum_{\Phi} m_\Phi u_N$$

y de la suma de información:

$$U_I = \sum_{\Phi} m_{\Phi} u_I$$

$$K_{NN} = \sum_{\Phi} m_{\Phi} u_N^2$$

$$K_{NI} = \sum_{\Phi} m_{\Phi} u_N u_I$$

y

$$K_{II} = \sum_{\Phi} m_{\Phi} u_I^2$$

D.4. ANALISIS BIODEMOGRAFICO

Al determinar la estructura genética de una población hay que tener en cuenta su movilidad y el área en el cual se mueven los individuos para elegir pareja, ya que marcará el espacio en el cual una población comparte su patrimonio genético.

Con esta finalidad se elaboran las matrices de migración a partir de información sobre el lugar de nacimiento de ambos progenitores y del individuo a analizar. Según la matriz utilizada se determinan distintos tipos de movimiento:

- Migracion marital: a partir del lugar de nacimiento de ambos progenitores,

- migración progenitores-descendientes: a partir del lugar de nacimiento de los padres (en filas) y de los hijos (en columnas). Con esta matriz, se puede estudiar la estructura genética de la población porque aporta información de dos generaciones sucesivas. Además, se puede conocer la variabilidad en el área de estudio por el cálculo del estadístico F_{st} de Wright, por la varianza de Wahlund, o bien el R_{st} de Harpending y Jenkins. Esto es posible, porque en la matriz de migración se predice la probabilidad de que un gen dado de una subpoblación cualquiera provenga de otra subpoblación dada en la generación anterior (Peña-García, 1988).

Con esta finalidad, se han elaborado las matrices de migración según el lugar de nacimiento de:

- padre x madre,

- individuo x padre, e

- individuo x madre,

para ambas comunidades.

A partir de estas, se calculó la matriz conjunta según el lugar de nacimiento de los progenitores y descendientes.

Para la identificación de los lugares de nacimiento se han utilizado los mapas de la zona editados por el Instituto Geográfico Militar de Ecuador (con una escala de 1:50.000.000). Dichos lugares se han asignado a distintas parroquias de los cantones de la provincia de Esmeraldas.

Para la comunidad de Rio Cayapas, en las matrices de migración se han considerado como casillas las distintas parroquias del cantón de Eloy Alfaro, otra con las parroquias que se incluyen en el cantón de San Lorenzo, otra con el resto de los cantones de Esmeraldas, y una última que incluía otras provincias de Ecuador y los procedentes de Colombia. En el caso de Viche, se han considerado las parroquias del cantón de Quininde, otra para los cantones más próximos de Esmeraldas, Muisne y Atacames, otro para los de Eloy Alfaro y San Lorenzo, y la última para otras provincias de Ecuador y Colombia.

Se han considerado los tamaños de población del V Censo General de Población de Esmeraldas (1991), si bien se ha hecho la corrección para el porcentaje de individuos negros. Así, para el cantón de Quininde se ha considerado el 20% de la población, y para Eloy Alfaro el 85% (Mons. Bartolucci, Comunicación personal). Además, se ha estimado el tamaño efectivo como 1/3 del tamaño muestral (Imaizumi *et al.*, 1970; Harpending y Jenkins, 1974; Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981; Peña, 1988).

A partir de las matrices de progenitores x descendientes, se ha calculado la

matriz estocástica de migración (P) y sobre ésta se ha aplicado el modelo de Malécot (1950) modificado por Imaizumi *et al.*, (1970) y por Morton (1973) para obtener una matriz de coeficientes de parentesco entre cada par de subpoblaciones. La ecuación de recurrencia de Φ en la generación t se expresa como:

$$\Phi_{ij}^{(t)}=(1-m_i)(1-m_j)\sum_{n}^{k=1} P_{ki}P_{kj}/2N_k+\sum_{n}^{K=1} P_{ki}P_{kj}(1-1/2N_k)\Phi_{kk}^{(t-1)}+\sum_{n}^{k=1} P_{ki}P_{hj}\Phi_{hk}^{(t-1)}$$

donde mj es la presión sistemática y Nj el tamaño efectivo de la subdivisión j.

Esta matriz predice el parentesco *a priori*, es decir, en relación a la generación fundadora. Se ha transformado en un matriz de parentesco condicional R, en relación a la generación actual, de acuerdo con el método de Harpending y Jenkins (1974).

$$r_{ij}=(\Phi_{ij}+\overline{\Phi}_{..}-\overline{\Phi}_{i.}-\overline{\Phi}_{.j})/(1-\overline{\Phi}_{..})$$

donde

$$\overline{\Phi}_{i.}=\sum_{k} W_k\Phi_{ik}$$

$$\overline{\Phi}_{..}=\sum_{i,k} W_iW_k\Phi_{ik}$$

y Wi es la proporción de individuos que viven en la población i.

Los valores de la diagonal rij de la matriz R representan una predicción de la similitud genética esperada entre los individuos de la población i. Su media ponderada por Nj es Rst que es una medida de microdiferenciación entre grupos equivalente a la F_{st} de Wright (1973).

También, se calcula el valor de Rst esperado en condiciones de panmixia, según la fórmula:

$$R_{st_{esperado}} = \frac{S-1}{2N_t}$$

donde S es el número de subpoblaciones y N_t el tamaño de la población.

Se obtienen "mapas" genéticos bidimensionales empleando los dos primeros vectores propios, obtenidos al aplicar el "non parametric Multidimensional Scaling" (MDS) sobre la matriz de parentescos R transformada en una matriz de disimilaridades mediante la fórmula:

$$d_{ij}^2 = r_{ii} + r_{jj} - 2r_{ij}$$

Los ejes resultantes se han rotado para conseguir la máxima congruencia con los factores obtenidos tras someter la matriz de distancias geográficas al mismo tipo de análisis. Ambos "mapas" pueden ser representados simultaneamente y, las diferencias entre las posiciones de las poblaciones en uno y otro, analizadas.

E. RESULTADOS Y DISCUSION

E.1. MARCADORES PROTEICOS

E.1.1. FRECUENCIAS FENOTIPICAS Y GENICAS:

En las Tablas E.1. y E.2. aparecen la distribución de los fenotipos y de las frecuencias alélicas con sus respectivos errores standard, de los marcadores estudiados en las comunidades afro-americanas de Rio Cayapas y Viche. El análisis de χ^2 aplicado en los casos en los que ha sido posible, para verificar la condición de equilibrio de Hardy-Weinberg, ha mostrado solamente diferencias estadisticamente significativas entre las frecuencias observadas y esperadas para el locus 1 de la PGM para el sistema A/B, detectable por isoelectroenfoque ($p < 0,001$), posiblemente en relación con la gran variabilidad de la enzima y el tamaño de la muestra. En los casos en los que no ha sido posible efectuar la prueba estadística de χ^2, por ser, por ejemplo, alguna de las clases fenotípicas igual a cero, se han calculado las frecuencias fenotípicas esperadas y se puede observar que no existen grandes diferencias entre estos valores teóricos y los observados.

En el caso de la G6PD, en la comunidad de Rio Cayapas, se ha encontrado en dos varones, una variante que presenta una movilidad electroforética más lenta de la variante normal B (93%) y con actividad normal (Figura E.1.). Una variante rara con igual movilidad ha sido encontrada, también, en la población Berba del Benin (Africa Occidental) (Biondi *et al.*, 1993) y en la población de Italia meridional (Rickards *et al.*, 1988), si bien no ha sido posible realizar estudios a nivel de la secuencia del gen, parece ser que se trate de variantes idénticas y con un origen común. Se habría originado en Africa, y la ha portado alguno de los esclavos

llevados a América. El hecho de que se encuentre en Sicilia podría ser debido a las migraciones que se han producido desde el norte de Africa (Rickards *et al.*, 1988).

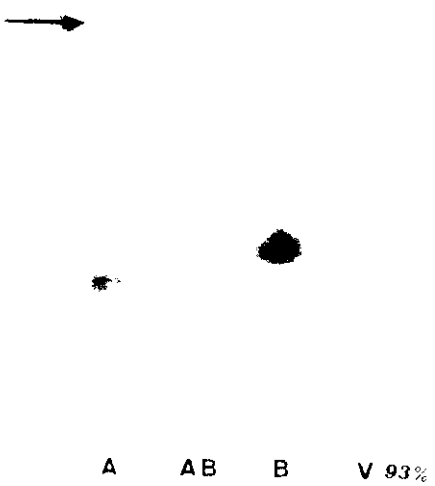


Fig. E.1.- *Patrón de bandas de la G6PD llevada a cabo en acetato de celulosa, donde aparecen los fenotipos normales A, B y AB, junto a la variante rara de movilidad 93%.*

Respecto a la termoestabilidad de la PGM1, se trata de un caracter poco analizado hasta el momento, y este es el primer dato del que se dispone para comunidades afro-americanas. Así, existen datos de poblaciones caucasoides, sobre todo europeos, en donde se ha mostrado un cierto polimorfismo (Scozzari *et al.*, 1984), y, en cambio, para la población Berba del Benin -oeste de Africa- (Biondi et al., 1993) y para los indios Cayapas de Ecuador (Rickards et al., 1993), ha resultado monomorfismo para la termoresistencia (Tr). En las comunidades objeto de este estudio, la frecuencia de la termosensibilidad es baja, similar en ambas, de 0,024 y 0,026 para Rio Cayapas y Viche, respectivamente, lo cual puede sugerir una contribución de genes blancos al "pool" génico de estas comunidades.

Tabla E.1.- *Distribución de las frecuencias fenotípicas observadas y esperadas, y de las frecuencias génicas con su respectivo error standard (SE) para los marcadores enzimáticos analizados en la comunidad Afro-americana de Río Cayapas.*

Sistema	Frecuencia fenotípica		Frecuencia génica ± SE
	Observada	Esperada	
ACP1			
A	1	1,96	
AB	35	31,03	ACP1*A: 0,112 ± 0,017
B	120	123,01	ACP1*B: 0,888
Total	156		Alelos independientes: 337,5
	χ^2_1= 1,503	0,20 < p < 0,30	
ADA			
1	154	153,20	
1-2	1	2,79	ADA*1: 0,991
2	1	0,01	ADA*2: 0,009 ± 0,005
Total	156		Alelos independientes: 337,5
AK1			
1	156		
1-2	0		AK1*1: 1,000 - 0,003
2	0		
Total	156		Alelos independientes: 337,5
CA2			
1	146	145,50	
1-2	8	8,38	CA2*1: 0,972
2	0	0,12	CA2*2: 0,028 ± 0,009
Total	154		Alelos independientes: 333,5
ESD			
1	142	145,50	
1-2	14	13,69	ESD*1: 0,954
2	0	0,33	ESD*2: 0,046 ± 0,011
Total	156		Alelos independientes: 337,5

Sistema	Frecuencia fenotípica		Frecuencia génica ± SE
	Observada	Esperada	
G6PD			
B	67		G6PD*B: 0,744 ± 0,046
A	13		G6PD*A: 0,145 ± 0,037
A-	8		G6PD*A-:0,089 ± 0,030
V (93%)	2		G6PD*V: 0,022 ± 0,015
Total ♂	90		Alelos independientes: 90
GLO1			
21	28	30,75	
1-2	81	77,02	GLO1*1: 0,444 ± 0,027
2	47	48,23	GLO1*2: 0,556
Total	156		Alelos independientes: 337,5
	χ^2_1= 0,483	0,30 < p < 0,50	
HBß			
A	104	102,95	
AC	31	34,36	
AS	12	12,38	
CC	5	2,86	HBß*A: 0,815 ± 0,021
CS*	2	2,06	HBß*C: 0,136 ± 0,019
SS*	1	0,37	HBß*S: 0,049 ± 0,012
Total	155		Alelos independientes: 335,7
	χ^2_2= 2,060	0,30 < p < 0,50	
PGD			
A	142	141,68	
AC	14	13,56	PGD*A: 0,953
C	0	0,35	PGD*C: 0,047 ± 0,012
Total	156		Alelos independientes: 337,5
PGM1			
1	118	115,38	
1-2	32	37,56	PGM1*1: 0,860
2	6	3,06	PGM1*2: 0,140 ± 0,019
Total	156		Alelos independientes: 337,5
	χ^2_1= 3,70	0,05 < p < 0,10	

Sistema	Frecuencia fenotípica		Frecuencia génica ± SE
	Observada	Esperada	
PGM1-IEF			
1A1A	82	74,44	
1A1B	28	35,88	
1B1B	7	4,32	
1A2A	18	23,20	
1A2B	2	6,87	
1B2A	6	5,59	
1B2B	6	1,66	PGM1*1A: 0,693 ± 0,025
2A2A	4	1,81	PGM1*1B: 0,167 ± 0,020
2A2B*	2	1,07	PGM1*2A: 0,108 ± 0,017
2B2B*	0	0,16	PGM1*2B: 0,032 ± 0,010
Total	155		Alelos independientes: 335,7
	χ^2_5= 23,28	p < 0,001	
PGM1-TERMOESTABILIDAD&			
1ATr 1BTr	26		
1ATr 1BTs	1		1ATr: 0,379 ± 0,043
1ATs 1BTr	1		1ATs: 0,008 ± 0,008
1ATr 2ATr	18		1BTr: 0,314 ± 0,042
1ATr 2BTr	2		1BTs: 0,008 ± 0,008
1BTr 2ATr	6		2ATr: 0,210 ± 0,036
1BTr 2BTr	6		2ATs: 0,000 + 0,008
2ATr 2BTr	1		2BTr: 0,073 ± 0,023
2ATr 2BTs	1		2BTs: 0,008 ± 0,008
Total	62		Alelos independientes: 124
PGM2			
1	155	155,06	
1-2	1	0,93	PGM2*1: 0,997
2	0	0,01	PGM2*2: 0,003 ± 0,003
Total	156		Alelos independientes: 337,5

* Fenotipos que se han sumado para llevar a cabo el test de χ^2.

& La termoestabilidad de la PGM1, dado que es un caracter dominante (Tr > Ts), con una frecuencia muy alta en las poblaciones hasta ahora analizadas, y que en poblaciones de Africa y de indios Cayapa (ver capítulo de historia) era monomórfica, se ha efectuado sólo sobre los heterocigotos.

Tabla E.2.- *Distribución de las frecuencias fenotípicas observadas y esperadas, y de las frecuencias génicas con su respectivo error standard (SE) para los marcadores enzimáticos analizados en la comunidad Afro-americana de Viche.*

Sistema	Frecuencia fenotípica		Frecuencia génica ± SE
	Observada	Esperada	
ACP1			
A	3	2,97	
AB	22	22,48	ACP1*A: 0,209 ± 0,033
B	43	42,55	ACP1*B: 0,791
Total	68		Alelos independientes: 148
	χ^2_1= 0,015	p = 0,90	
ADA			
1	67	67,05	
1-2	1	0,94	ADA*1: 0,993
2	0	0,01	ADA*2: 0,007 ± 0,007
Total	68		Alelos independientes: 148
AK1			
1	64	64,38	
1-2	4	3,57	AK1*1: 0,973
2	0	0,05	AK1*2: 0,027 ± 0,013
Total	68		Alelos independientes: 148
CA2			
1	59	58,81	
1-2	6	6,98	CA2*1: 0,944
2	1	0,21	CA2*2: 0,056 ± 0,019
Total	66		Alelos independientes: 148
ESD			
1	54	53,26	
1-2	13	13,84	ESD*1: 0,885
2	1	0,90	ESD*2: 0,115 ± 0,026
Total	68		Alelos independientes: 148

Sistema	Frecuencia fenotípica		Frecuencia génica ± SE
	Observada	Esperada	
G6PD			
B	22		G6PD*B: 0,759 ± 0,079
A	3		G6PD*A: 0,103 ± 0,056
A-	4		G6PD*A-:0,138 ± 0,064
Total ♂	29		Alelos independientes: 29
GLO1			
1	7	5,96	
1-2	24	28,34	GLO1*1: 0,296 ± 0,037
2	37	33,70	GLO1*2: 0,704
Total	68		Alelos independientes: 148
	χ^2_1= 1,17	0,20 < p < 0,30	
HBß			
A	59	59,96	
AC	2	1,79	
AS	7	6,00	
CC	0	0,01	HBß*A: 0,939 ± 0,020
CS	0	0,09	HBß*C: 0,014 ± 0,009
SS	0	0,15	HBß*S: 0,047 ± 0,017
Total	68		Alelos independientes: 148
PGD			
A	67	66,65	
AC	1	1,34	PGD*A: 0,990
C	0	0,01	PGD*C: 0,010 ± 0,008
Total	68		Alelos independientes: 148
PGM1			
1	52	51,24	
1-2	15	15,58	PGM1*1: 0,868
2	1	1,18	PGM1*2: 0,132 ± 0,029
Total	68		Alelos independientes: 148
	χ^2_1= 0,060	0,80 < p < 0,90	

Sistema	Frecuencia fenotípica		Frecuencia génica ± SE
	Observada	Esperada	
PGM1-IEF			
1A1A	23	22,72	
1A1B	24	22,72	
1B1B	5	5,68	
1A2A	4	6,53	
1A2B	4	3,93	
1B2A[#]	4	3,26	
1B2B[§]	3	1,96	PGM1*1A: 0,578 ± 0,041
2A2A[#]	1	0,47	PGM1*1B: 0,289 ± 0,037
2A2B[§]	0	0,56	PGM1*2A: 0,083 ± 0,023
2B2B[§]	0	0,17	PGM1*2B: 0,050 ± 0,018
Total	68		Alelos independientes: 148
	χ^2_3= 1,57	0,50 < p < 0,70	
PGM1-TERMOESTABILIDAD[&]			
1ATr 1BTr	22		1ATr: 0,385 ± 0,055
1Ats 1BTr	2		1ATs: 0,026 ± 0,018
1ATr 2ATr	4		1BTr: 0,397 ± 0,055
1Atr 2BTr	4		1BTs: 0,000 - 0,013
1BTr 2ATr	4		2ATr: 0,102 ± 0,034
1BTr 2BTr	3		2ATs: 0,000 - 0,013
2ATr 2BTr	0		2BTr: 0,090 ± 0,032
			2BTs: 0,000 - 0,013
Total	39		
PGM2			
1	68		
1-2	0		PGM2*1: 1,000 - 0,003
2	0		
Total	68		Alelos independientes: 148

[#], [§] Indica que los fenotipos han sido sumados para el cálculo del χ^2.

[&] Igual que en el caso de la comunidad Afro-americana de Rio Cayapas, al ser la PGM1 Tr/Ts dominante, la determinación ha sido efectuado solamente en los individuos heterocigotos.

E.1.2. COMPARACION ENTRE LAS DOS COMUNIDADES ANALIZADAS:

El test de χ^2 aplicado para valorar la presencia de heterogeneidad entre las dos comunidades (Tabla E.3.) ha mostrado diferencias estadisticamente significativas, con valores de p inferiores a 0,01, para los marcadores ACP1, AK1, ESD, GLO1, HB y PGM1-IEF. Estas diferencias indican que en las dos comunidades pueden haber tenido lugar procesos históricos y microevolutivos distintos que las han diferenciado, a nivel de las frecuencias alélicas, en los distintos marcadores enzimáticos.

Tabla E.3.- *χ^2 de heterogeneidad para los distintos sistemas en las comunidades afro-americanas de Rio Cayapas y Viche.*

SISTEMA	*VALOR DE χ^2*	*CORREGIDO POR YATES*	*G.L.*	*INTERVALO DE P*
ACP1	7,8991	7,1238	1	0,001 < p < 0,01
ADA	0,3555	0,0298	1	0,80 < p < 0,90
AK1	9,1432	6,1458	1	0,01 < p < 0,02
CA2	2,2933	1,5666	1	0,20 < p < 0,30
ESD	7,8121	6,7480	1	0,001 < p < 0,01
GLO1	8,9037	8,3117	1	0,001 < p < 0,01
HBß	17,4964		2	p < 0,001
PGD	4,1951	3,1854	1	0,10 < p < 0,05
PGM1	0,2140	0,1036	1	0,70 < p < 0,80
PGM1-IEF	23,13		3	p < 0,001
PGM2	0,4420	0,1774	1	0,50 < p < 0,70
G6PD	0,7832		2	0,50 < p < 0,70

No sabemos si la comunidad negra de Colombia, que ha sido la que ha aportado mayor contribución a la población afro-americana de Ecuador (ver historia) es geneticamente tan heterogénea como para justificar por completo las diferencias observadas entre ambas comunidades, ya que los únicos datos a

disposición para esta comunidad son los relativos a un estudio llevado a cabo en una muestra mixta de 134 individuos procedentes de distintas localidades, para el sistema ABO, Rh, HBß y deficiencia de la G6PD (ver tabla E.4.).

Tabla E.4.- *Frecuencias génicas de los sistemas estudiados en la comunidad afro-americana de Colombia, en comparación con las de Rio Cayapas y Viche.*

	*ABO*A*	*ABO*B*	*RH*d*	*HBß*C*	*HBß*S*	*Def.G6PD*	*REF.*
COLOMBIA	0,101	0,046	0,158	0,057	0,026	0,130	1
RIO CAYAPAS	0,090	0,059	0,275	0,136	0,049	0,090	2
VICHE	0,083	0,109	0,131	0,014	0,047	0,140	2

1. Monsalve *et al.*, (1987).
2. ABO y RH: De Stefano (comunicación personal).

La presencia de heterogeneidad en Colombia podría ser una de las posibles causas de la diversidad encontrada entre las dos comundades afro-esmeraldeñas de Ecuador, si bien, la historia y los procesos microevolutivos que han determinado la estructura genética de estas dos comunidades tienen posiblemente el papel más importante. Desde este punto de vista, sabemos que la comunidad de Rio Cayapas es una comunidad que se ha quedado aislada desde hace por lo menos tres siglos, mientras que la de Viche, que es una comunidad urbana, con origen reciente (en los años cuarenta) con individuos procedentes de distintos localidades, y que se han mezclado en gran medida con la comunidad de ladinos (ver historia y resultados de biodemografía).

E.1.3. COMPARACION CON LAS POBLACIONES PARENTALES Y OTRAS COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS:

El siguiente paso ha sido el de comparar estas poblaciones afro-americanas con las poblaciones que han podido constituir su sustrato original, parentales, para ver su posible contribución al "pool" génico de las comunidades negras de Rio Cayapas y Viche y, a continuación, se han relacionado con otras comunidades afro-americanas, para las cuales existen estudios de los marcadores genéticos considerados en el presente estudio.

E.1.3.1. POBLACIONES COMPARADAS:

E.1.3.1.1. POBLACION PARENTAL CAUCASOIDE

Respecto a las poblaciones parentales, en el caso de la componente caucasoide se ha considerado una mezcla de series españolas y se ha elaborado una media ponderada según el tamaño de las muestras procedentes de las regiones de Andalucia, Castilla y Galicia por ser los que aportaron mayor número de emigrantes a América, como ya se había documentado en el capítulo de historia (página 29); además de las series de residentes de Madrid y Barcelona, por ser muestras representativas de toda España, particularmente de las regiones centrales y de Andalucía. Se han considerado las distintas provincias en igual proporción, por no existir heterogeneidad respecto a las frecuencias alélicas, para las distintas localidades. En la Figura E.2. aparece un mapa de la Península Ibérica con las poblaciones consideradas y en la tabla E.5. se muestran las frecuencias de los distintos alelos para dichas muestras españolas y la media ponderada obtenida.

Referencias bibliográficas de la tabla E.5.: 1: Afonso *et al.*, 1989; 2: Martell *et al.*, 1986; 3: Goedde *et al.*, 1972; 4: Romero *et al.*, 1986; Gamero-Lucas *et al.*, 1991; 5: Espinola Arias, 1984; Perez Gutierrez 1988; 6: García *et al.*, 1976; Goedde *et al.*, 1972; López Larrea *et al.*, 1981; 7: Martínez Pancorbo *et al.*, 1983; Martínez Pancorbo *et al.*, 1986; Martínez Pancorbo *et al.*, 1989; 8: Martínez Pancorbo *et al.*, 1983; Martínez Pancorbo *et al.*, 1986; Martínez Pancorbo *et al.*, 1987; Martínez Pancorbo *et al.*, 1989; 9: Blázquez Caeiro, Comunicación personal; 10: Busi *et al.*, 1979; Gremo, 1988; Pellicer y Casado, 1970; 11: Moreno y Moral, 1981; Moral y Panadero, 1984; Ribo *et al.*, 1988; 12: Augeto *et al.*, 1986; Moreno, Más y Ribó, 1989; 13: Caeiro *et al.*, 1982; Caeiro *et al.*, 1987; Caeiro, comunicación personal; 14: Carracedo, 1982; Carracedo y Concheiro, 1982; Carracedo y Concheiro, 1983; 15: Goedde *et al.*, 1972; 16: Carracedo *et al.*, 1987.

Nota.- En el caso de la G6PD, se han tenido en consideración los trabajos de Pellicer y Casado (1970) y de Flatz y düren (1967), si bien no figuran en la tabla, por tratarse de distintas provincias.

Tabla E.5.- *Frecuencias alélicas en las distintas muestras españolas, y media ponderada según el tamaño de la muestra.*

POBLACION	REF.	ADA*1	ADA*2	AK1*1	AK1*2	ESD*1	ESD*2	ESD*5	CA2*1	GLO1*1	GLO1*2	GD*B	GD*A	GDA-	PGD*A	PGD*C	ACP1*A	ACP1*B	ACP1*C	PGM1*1A	PGM1*1B	PGM1*2A	PGM1*2B	PGM1*1	PGM1*2
PENINSULA IBERICA (residentes Tenerife)	1					0,817 (131)	0,183			0,422 (148)	0,578	1,000 (175)	0,000	0,000	0,959 (135)	0,041	0,270 (128)	0,703	0,027					0,700 (146)	0,298
PENINSULA IBERICA (residentes G. Canaria)	2					0,800 (66)	0,200			0,400 (81)	0,600				0,950 (76)	0,050	0,310 (65)	0,640	0,040					0,630 (81)	0,360
SEVILLA	3	0,943 (218)	0,057	0,952 (218)	0,048										0,983 (209)	0,017	0,397 (213)	0,580	0,023					0,772 (219)	0,228
CADIZ	4	0,942 (458)	0,058	0,947 (436)	0,053	0,903 (398)	0,097								0,997 (414)	0,003									
ANDALUCIA ORIENTAL	5					0,842 (352)	0,158										0,279 (385)	0,696	0,025	0,606 (405)	0,125	0,191	0,078	0,731 (405)	0,269
MADRID (Centro Meseta)	6	0,966 (160)	0,034	0,961 (203)	0,039					0,416 (100)	0,584	0,992 (629)	0,000	0,000	0,984 (188)	0,016	0,324 (190)	0,624	0,052					0,755 (212)	0,245
LEON	7					0,915 (118)	0,085			0,568 (118)	0,432				0,962 (118)	0,038	0,233 (118)	0,729	0,038					0,737 (118)	0,263
BURGOS	8					0,899 (119)	0,101			0,580 (118)	0,420				0,979 (114)	0,021	0,252 (119)	0,723	0,025					0,828 (119)	0,172
VALLADOLID	8					0,829 (108)	0,171			0,592 (108)	0,408				0,972 (108)	0,028	0,278 (108)	0,699	0,023					0,727 (108)	0,273
PALENCIA/ZAMORA	8					0,866 (93)	0,134			0,565 (90)	0,435				0,980 (49)	0,020	0,287 (68)	0,691	0,022					0,750 (92)	0,250
LEON	9									0,568 (308)	0,432				0,972 (308)	0,028	0,251 (308)	0,718	0,031						
MADRID (residentes)	10									0,448 (194)	0,552	0,993 (266)	0,000	0,000			0,275 (952)	0,678	0,047	0,663 (736)	0,097	0,189	0,051	0,760 (736)	0,240
BARCELONA (residentes)	11	0,962 (238)	0,038			0,882 (440)	0,118			0,464 (181)	0,536				0,975 (252)	0,025	0,297 (440)	0,642	0,061						
BARCELONA (residentes)	12					0,888 (430)	0,112			0,446 (625)	0,554						0,277 (944)	0,648	0,075	0,586 (771)	0,124	0,235	0,055	0,710 (771)	0,290
GALICIA	13					0,891 (543)	0,109		1,000 (506)	0,493 (500)	0,507														
GALICIA	14	0,950 (1086)	0,050	0,961 (1086)	0,039	0,879 (1085)	0,121			0,423 (319)	0,577				0,978 (1086)	0,022	0,278 (1086)	0,686	0,036	0,621 (1086)	0,114	0,211	0,054	0,735 (1086)	0,265
LUGO	15	0,951 (234)	0,049	0,978 (249)	0,022										0,975 (240)	0,025	0,298 (253)	0,666	0,036						
GALICIA	16					0,874 (394)	0,104	0,022																	
PROMEDIO		0,950 (2394)	0,050	0,959 (2192)	0,041	0,877 (4277)	0,121	0,002	1,000 (506)	0,482 (2265)	0,518	0,997 (2671)	0,000	0,003	0,978 (3297)	0,022	0,283 (5377)	0,672	0,045	0,620 (2998)	0,114	0,209	0,057	0,737 (4093)	0,263

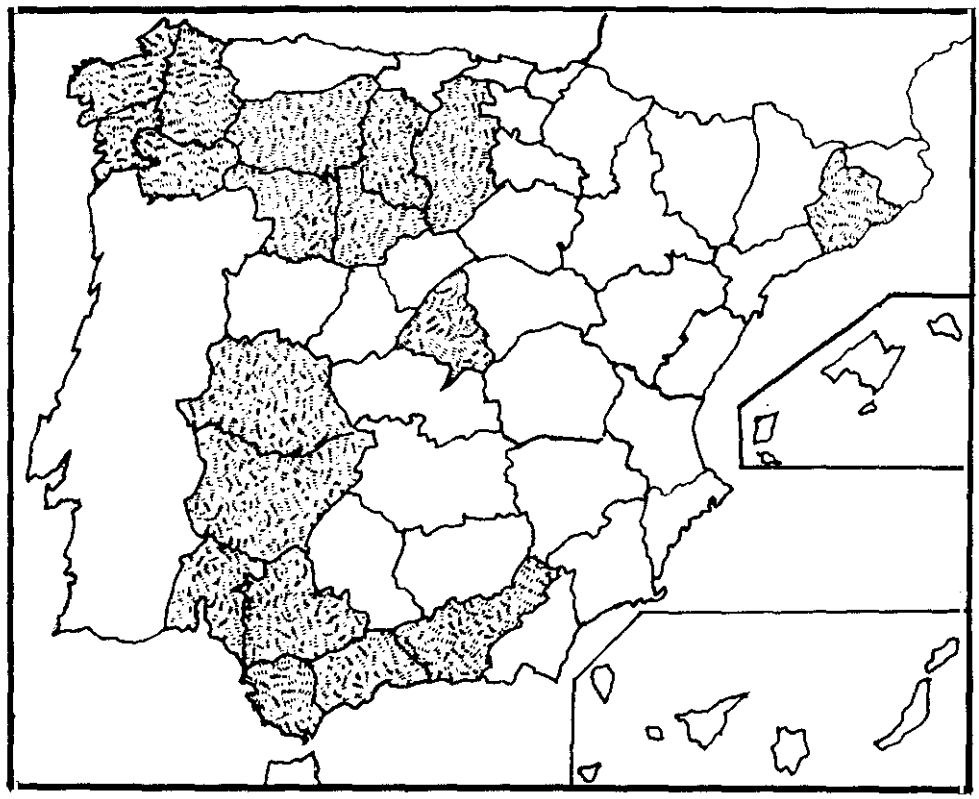


Fig. E.2.- *Mapa de la Península Ibérica, donde aparecen sombreadas las poblaciones para las cuales se han considerado estudios de polimorfismos enzimáticos.*

E.1.3.1.2. POBLACION PARENTAL NEGROIDE

En el caso de Africa, igualmente, se ha obtenido un media ponderada, según el tamaño de las muestras, para las poblaciones de las cuales salieron contingentes de esclavos que han dado origen a estas poblaciones afro-americanas. Se trata del Oeste africano, que viven desde Senegal hasta Angola, y en este último país, se incluyen solamente los grupos pertenecientes al stock Bantú. Si bien, hay que tener en cuenta que el origen exacto es incierto porque no existen registros, algunos de ellos han llegado indirectamente procedentes de otros paises americanos, que estamos tratando de extrapolar el "pool" génico de hace 400 años y de que existe una gran heterogeneidad genética en Africa. En la tabla E.6. aparecen las frecuencias alélicas de cada una de las distintas poblaciones de Africa consideradas, así como la media ponderada obtenida y en la Figura E.3. el área geográfica que ocupan actualmente.

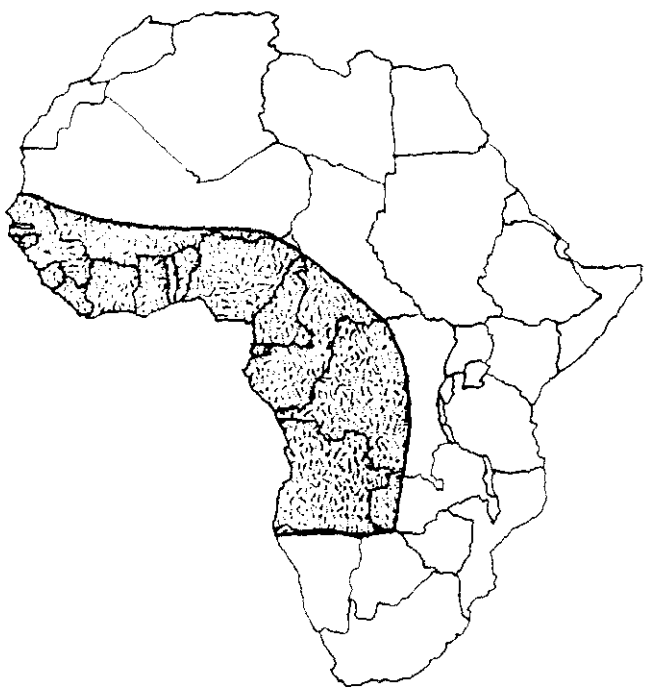


Fig. E.3.- *Mapa de Africa con las zonas de donde se han seleccionado poblaciones para hacer la media ponderada de la población parental africana.*

Referencias bibliográficas de la tabla E.6.- 1: Morilla *et al.*, 1988; 2: Ojikutu *et al.*, 1977; 3: Goedde et al., 1988; Willcox y Beckman, 1981; 4: Raymondjean et al., 1975; 5: Bouloux et al., 1972; 6: Tashian et al., 1976; Goedde et al., 1979; Bernstein et al., 1980; 7: Vergnes y Gourdin, 1974; Vergnes y Cabannes, 1976; 8: Vergnes y Gourdin, 1974; 9: Spedini et al., 1980; 10: Spedini et al., 1980; Destro-Bisol et al., 1987; 11: Biondi et al., 1989; Biondi et al., 1993; 12: Martínez-Labarga y Rickards, 1992; 13: Spedini et al., 1980; Martínez-Labarga y Rickards, 1992; 14: Spedini et al., 1981; 15: Destro-Bisol et al., 1992; 16: Welch, 1974; Parr et al., 1977; Welch et al., 1978; 17: Bienzle et al., 1972; 18: Jenkins et al., 1979; 19: Jaeger, 1974; 20: Hiernaux, 1976; 21: Nurse et al., 1979; 22: Spedini et al., 1986; Destro-Bisol et al., 1986; Ranalletta et al., 1986; 23: Spedini et al., 1982; Spedini et al., 1983; Destro-Bisol et al., 1987; 24: Spedini et al., 1982; Spedini et al., 1983.

Tabla E.6.- *Frecuencias génicas para los distintos sistemas en distintas poblaciones de Africa, y media ponderada obtenida según el tamaño de las muestras.*

POBLACION	REF.	ADA*1	ADA*2	ADA*5	AK1*1	AK1*2	ESD*1	ESD*2	CA2*1	CA2*2	GLO1*1	GLO1*2	GD*B	GD*A	GD*A-	PGD*A	PGD*C	ACP1*A	ACP1*B	ACP1*C	ACP1*R	PGM1*1A	PGM1*1B	PGM1 1A	PGM1*2B	PGM1*1	PGM1*2	PGM2*1	PGM2*2	Hb*A	Hb*S	Hb*C
GUINEA ECUATORIAL	1						0,881 (59)	0,119			0,297 (59)	0,703	0,735 (83)	0,265		0,949 (59)	0,051	0,161 (59)	0,763	0,008	0,068					0,767 (58)	0,233					
Yoruba (NIGERIA)	2	1,000 (64)	0,000		1,000 (64)	0,000	0,937 (64)	0,063	0,891 (64)	0,109			0,580 (45)	0,269	0,151	0,945 (64)	0,055	0,182 (66)	0,773	0,000	0,045					0,769 (65)	0,231	0,992 (65)	0,008			
LIBERIA	3				1,000 (485)	0,000	0,947 (485)	0,053			0,324 (485)	0,676	0,690 (71)	0,155	0,155	0,941 (485)	0,059	0,180 (485)	0,820	0,000	0,000	0,787 (485)	0,039	0,147	0,027	0,826 (485)	0,174			0,950 (616)	0,044	0,006
Dakar (SENEGAL)	4	1,000 (200)	0,000		1,000 (270)	0,000												0,196 (270)	0,780	0,004	0,020					0,806 (270)	0,194					
Bedik (SENEGAL)	5				1,000 (748)	0,000							0,726 (391)	0,240	0,034	0,952 (756)	0,048	0,257 (746)	0,740		0,003					0,819 (755)	0,181	0,999 (755)	0,001	0,860 (776)	0,140	0,000
CAMERUN	6	1,000 (280)	0,000		1,000 (280)	0,000	0,974 (283)	0,026	0,956 (92)	0,044	0,337 (280)	0,663	0,677 (560)	0,259	0,064	0,957 (282)	0,043	0,184 (282)	0,814	0,002	0,000					0,745 (284)	0,255			0,910 (1158)	0,090	0,000
Gagu (COSTA MARFIL)	7				0,997 (301)	0,003							0,662 (214)	0,196	0,182	1,000 (311)	0,000	0,093 (294)	0,825	0,000	0,082					0,825 (280)	0,175	0,979 (280)	0,021			
Paleosudaneses (COSTA MARFIL)	8															1,000 (228)	0,000	0,074 (223)	0,890	0,000	0,036					0,866 (187)	0,134	1,000 (187)	0,000			
Manding (COSTA MARFIL)	8															1,000 (71)	0,000	0,042 (71)	0,923	0,000	0,035					0,821 (70)	0,179	1,000 (70)	0,000			
Tofinu (BENIN)	9				0,989 (90)	0,011	0,935 (100)	0,065								0,940 (101)	0,060	0,186 (102)	0,760	0,000	0,054					0,820 (103)	0,180					
Goun (BENIN)	10								0,855 (55)	0,145								0,164 (122)	0,783	0,000	0,053	0,734 (62)	0,073	0,169	0,024	0,807 (62)	0,193			0,856 (386)	0,111	0,033
Nago (BENIN)	10								0,833 (18)	0,167								0,111 (45)	0,856	0,011	0,022	0,800 (20)	0,050	0,125	0,025	0,850 (20)	0,150			0,836 (123)	0,129	0,035
Berba (BENIN)	11	0,986 (284)	0,000	0,014	1,000 (284)	0,000	0,951 (285)	0,049	0,856 (284)	0,144	0,312 (285)	0,688	0,566 (113)	0,275	0,159	0,916 (285)	0,084	0,209 (283)	0,777	0,000	0,014	0,773 (284)	0,079	0,129	0,019	0,852 (284)	0,148	1,000 (284)	0,000	0,796 (1938)	0,048	0,156
Bariba (BENIN)	12	0,980 (50)	0,000	0,020	1,000 (50)	0,000	0,930 (50)	0,070	0,860 (50)	0,140	0,340 (50)	0,660	0,667 (36)	0,194	0,139	0,950 (49)	0,050	0,080 (50)	0,920	0,000	0,000	0,790 (50)	0,060	0,110	0,040	0,850 (50)	0,150	1,000 (50)	0,000	0,860 (196)	0,043	0,097
Fon (BENIN)	13	0,970 (50)	0,010	0,020	1,000 (50)	0,000	0,960 (50)	0,040	0,860 (50)	0,140	0,350 (50)	0,650	0,639 (36)	0,222	0,139	0,980 (50)	0,020	0,085 (88)	0,869	0,017	0,029	0,660 (50)	0,200	0,090	0,050	0,840 (50)	0,160	1,000 (50)	0,000	0,805 (398)	0,171	0,024
Dendi (BENIN)	12	0,990 (50)	0,000	0,010	1,000 (50)	0,000	0,920 (50)	0,080	0,920 (50)	0,080	0,340 (50)	0,660	0,676 (37)	0,135	0,189	0,920 (50)	0,080	0,080 (50)	0,850	0,000	0,070	0,680 (50)	0,070	0,150	0,100	0,760 (50)	0,240	1,000 (50)	0,000	0,840 (50)	0,080	0,080
Porto Novo (BENIN)	14				1,000 (103)	0,000	0,903 (31)	0,097			0,303 (89)	0,697				0,995 (103)	0,005	0,260 (104)	0,692	0,000	0,038					0,800 (105)	0,200					
Bakakas (CAMERUN)	15	0,992 (257)	0,000	0,008			0,960 (274)	0,040	0,941 (255)	0,059	0,389 (274)	0,611				0,971 (273)	0,029	0,172 (273)	0,826	0,000	0,002	0,609 (274)	0,144	0,214	0,033	0,753 (274)	0,247			0,895 (276)	0,105	0,000
Djedje (BENIN)	9																	0,185 (46)	0,783	0,000	0,032											
Keneba (GAMBIA)	16						0,916 (734)	0,084	0,897 (586)	0,103	0,279 (506)	0,721										0,795 (637)	0,053	0,133	0,019	0,848 (637)	0,152					
TOGO	17												0,536 (472)	0,271	0,193																	
Mbundu (ANGOLA)	18	1,000 (150)																0,138 (354)	0,862													
Ovimbundu (ANGOLA)	18	1,000 (105)	0,000		1,000 (150)	0,000												0,168 (288)	0,830	0,002												
Lunda-Tchokue (ANGOLA)	18																	0,161 (236)	0,839													
Sara/Niamane (REP. CENTROAFRICANA)	19	1,000 (262)	0,000	0,000	1,000 (263)	0,000							0,576 (280)	0,139	0,285	0,969 (260)	0,031	0,123 (259)	0,813	0,000	0,064					0,818 (264)	0,182	0,996 (264)	0,004			
Sara (CHAD)	20				1,000 (136)	0,000							0,620 (100)	0,130	0,180	0,995 (207)	0,005	0,246 (203)	0,739	0,003	0,012					0,814 (175)	0,186	0,997 (174)	0,003	0,978 (257)	0,022	0,000
Njinga (ANGOLA)	21	0,982 (109)	0,000	0,018	0,995 (109)	0,005	0,947 (95)	0,053					0,686 (53)	0,141	0,173	0,917 (109)	0,083	0,193 (109)	0,807	0,000	0,000					0,849 (109)	0,151	0,973 (109)	0,027	0,794 (104)	0,202	0,004
Beti (CONGO)	22				1,000 (95)	0,000			0,958 (95)	0,042	0,300 (95)	0,700				0,963 (95)	0,037	0,195 (95)	0,789	0,000	0,016	0,763 (95)	0,016	0,184	0,037	0,779 (95)	0,221			0,837 (95)	0,163	
Bateke (CONGO)	22				1,000 (137)	0,000			0,926 (135)	0,074	0,318 (137)	0,682				0,996 (136)	0,004	0,146 (137)	0,847	0,000	0,007	0,816 (133)	0,026	0,132	0,026	0,842 (133)	0,158			0,909 (137)	0,091	
Babenga (CONGO)	22				1,000 (47)	0,000			0,902 (46)	0,098	0,298 (47)	0,702				1,000 (46)	0,000	0,191 (47)	0,809	0,000	0,000	0,728 (48)	0,043	0,207	0,022	0,771 (48)	0,229			0,957 (47)	0,043	
Mbugu (R. CENTROAFR.)	23						0,891 (133)	0,109	0,910 (50)	0,090	0,272 (92)	0,728				0,966 (133)	0,034	0,223 (139)	0,734	0,000	0,043	0,740 (50)	0,130	0,110	0,020	0,925 (133)	0,075			0,939 (131)	0,061	
Yakpa (R. CENTROAFR.)	24						0,853 (34)	0,147			0,333 (21)	0,667				0,985 (34)	0,015	0,265 (34)	0,676	0,000	0,059					0,824 (34)	0,176			0,926 (34)	0,074	
Sango (R. CENTROAFR.)	23						0,911 (73)	0,089	0,904 (41)	0,098	0,236 (70)	0,764				0,979 (73)	0,021	0,226 (73)	0,726	0,000	0,048	0,667 (42)	0,167	0,119	0,047	0,836 (73)	0,164			0,890 (73)	0,110	
Baya (R. CENTROAFR.)	24						0,958 (12)	0,042			0,367 (15)	0,633				1,000 (12)	0,000	0,292 (12)	0,708	0,000	0,000					0,792 (12)	0,208			1,000 (11)	0,000	0,000
PROMEDIO		0,994 (1861)	0,000	0,006	0,999 (3712)	0,001	0,936 (2812)	0,064	0,902 (1871)	0,098	0,316 (2605)	0,684	0,638 (2491)	0,226	0,136	0,963 (4272)	0,037	0,177 (5645)	0,802	0,001	0,902 (1871)	0,756 (2280)	0,069	0,148	0,027	0,820 (5165)	0,180	0,995 (2338)	0,005			

E.1.3.1.3. *COMPONENTE INDIGENA*

Respecto a la población parental indígena, se ha considerado como referencia la comunidad de indios Cayapas, que viven en la provincia de Esmeraldas, a lo largo del rio Cayapas, junto a la comunidad afro-americana analizada en este estudio y para la cual se dispone de información relativa a los polimorfismos considerados (Rickards *et al.*, 1993).

E.1.3.1.4. COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS

La Figura E.4. corresponde a un mapa con las distintas comunidades afro-americanas que han sido utilizadas para la comparación, y en las tablas E.7.- E.18. aparecen sus frecuencias génicas, con los respectivos errores standard. En el caso de que para una comunidad existan distintos trabajos llevados a cabo en diferentes fechas o por distintos laboratorios, se ha elaborado una media ponderada según el tamaño de las muestras. En dichas tablas, también, aparecen las frecuencias de las poblaciones parentales.

En las Figuras E.5 - E.16., aparecen las representaciones gráficas de las tablas anteriores, en donde se han representado con círculo rojo las frecuencias alélicas de las poblaciones objeto de este estudio, con un círculo, triángulo o cuadrado blancos las tres poblaciones parentales: africana, española e indios Cayapas, respectivamente, y con círculo negro el resto de las comunidades afro-americanas.

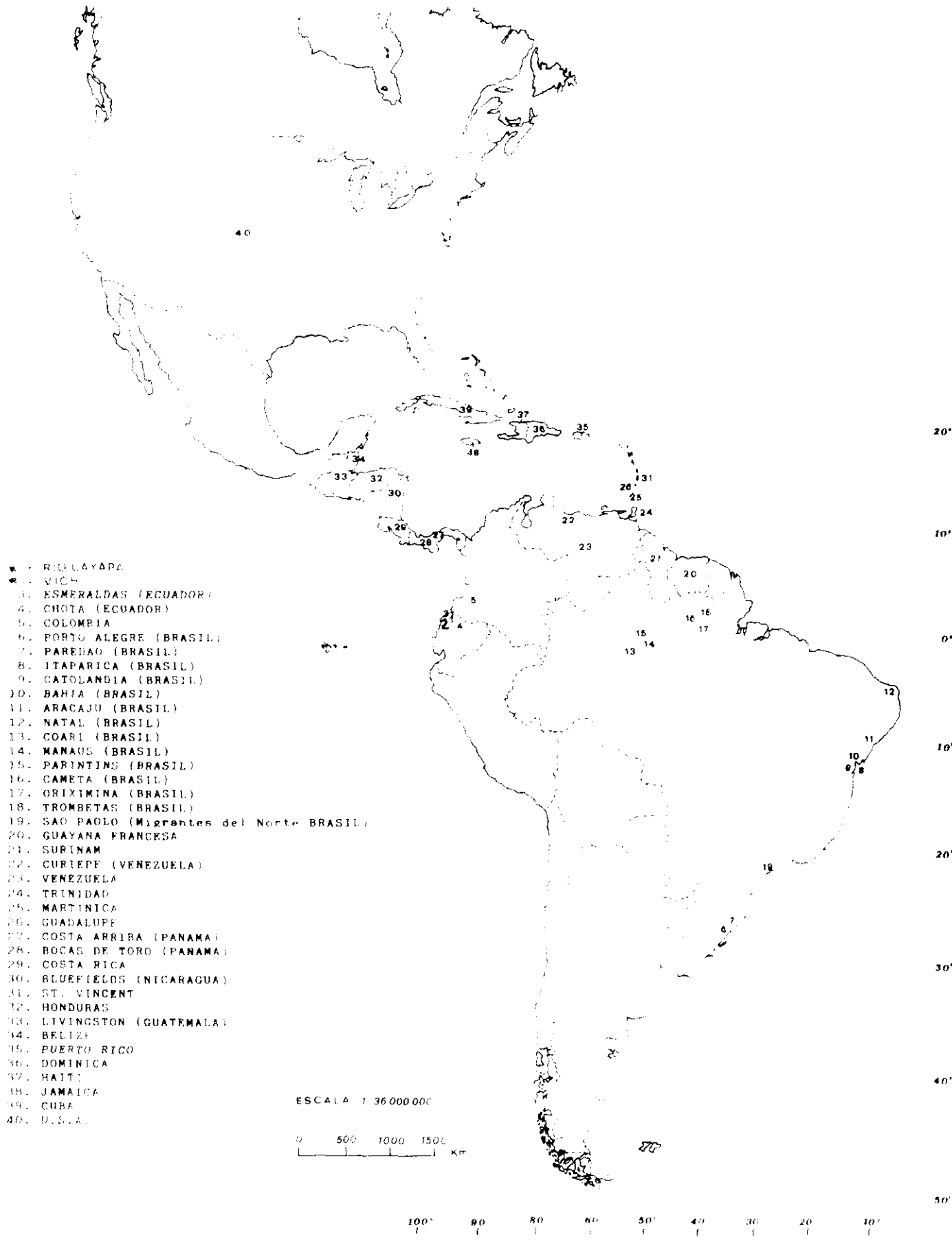


Fig. E.4.- *Mapa del continente americano, donde aparecen señaladas las distintas comunidades afro-americanas que han sido estudiadas geneticamente.*

Tabla. E.7. *FOSFATASA ACIDA ERITROCITARIA (ACP1)*

POBLACION	*REF.*[1]	*N*	*ACP1*A±S*	*ACP1*B*	*ACP1*C±S*	*ACP1*R±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,112±0,017**	**0,888**	**0,000+0,003**	**0,000+0,003**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,209±0,035**	**0,791**	**0,000+0,007**	**0,000+0,007**
PAREDAO (BRASIL)	1	36	0,028±0,019	0,972	0,000+0,014	0,000+0,014
CATOLANDIA (BRASIL)	2	122	0,250±0,028	0,740	0,000+0,004	0,010±0,006
ARACAJU (BRASIL)	3	578	0,230±0,012	0,730	0,030±0,005	0,010±0,003
CAMETA (BRASIL)	1	93	0,102±0,022	0,898	0,000+0,005	0,000+0,005
ORIXIMINA (BRASIL)	4	147	0,160±0.021	0,790	0,040±0,011	0,010±0,006
TROMBETAS (BRASIL)	5	201	0,190±0,019	0,790	0,010±0,005	0,010±0,004
CURIEPE (VENEZUELA)	1	94	0,245±0,031	0,750	0,005±0,005	0,000+0,005
TRINIDAD	6	101	0,109±0,022	0,886	0,000+0,005	0,005±0,005
COSTA ARRIBA (PANAMA)	7	413	0,162±0,013	0,827	0,000+0,001	0,011±0,004
BOCAS DE TORO (PANAMA)	7	344	0,168±0,014	0,820	0,007±0,003	0,005±0,003
PANAMA	7	757	0,165±0,009	0,824	0,003±0,001	0,008±0,001
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	8	163	0,178±0.021	0,819	0,000+0,003	0,003±0,003
B.C. ST. VINCENT	9	651	0,206±0,011	0,792	0,000+0,001	0,002±0,001
CREOLES ST. VINCENT	9	105	0,115±0,022	0,885	0,000+0,005	0,000+0,005
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	10	203	0,175±0,019	0,783	0,000+0,002	0,042±0,009
B.C. BELIZE	9	587	0,167±0,011	0,817	0,001±0,001	0,015±0,003
CREOLES BELIZE	9	204	0,190±0,019	0,799	0,000+0,002	0,011±0,005
HAITI	11	305	0,179±0,015	0,821	0,000+0,002	0,000+0,002
MULATOS CUBA	12	145	0,198±0,023	0,767	0,035±0,010	0,000+0,003
NEGROS CUBA	12	163	0,206±0,022	0,782	0,012±0,006	0,000+0,003
U.S.A.	13	3927	0,219±0,005	0,762	0,011±0,001	0,008±0,002
AFRICA	14	5645	0,177±0,004	0,802	0,001±0,001	0,020±0,001
ESPAÑA	15	5377	0,283±0,008	0,672	0,045±0,002	0,000+0,001
INDIOS CAYAPAS	16	164	0,220±0,023	0,780	0,000+0,003	0,000+0,003

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Bortolini *et al.*, 1992; 2: Weimer *et al.*, 1991; 3: Conceiçao *et al.*, 1987; 4: Santos *et al.*, 1987; 5: Schneider *et al.*, 1987; 6: Saha y Samuel, 1987; 7: Ferrell *et al.*, 1978; 8: Biondi *et al.*, 1988; 9: Crawford *et al.*, 1984; Hutchinson, 1986; 10: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 11: Basu *et al.*, 1976; 12: González *et al.*, 1976; 13: Gaensslen *et al.*, 1987; 14: varios (ver tabla E.6.); 15: varios (ver tabla E.5.); 16: Rickards *et al.*, 1993.

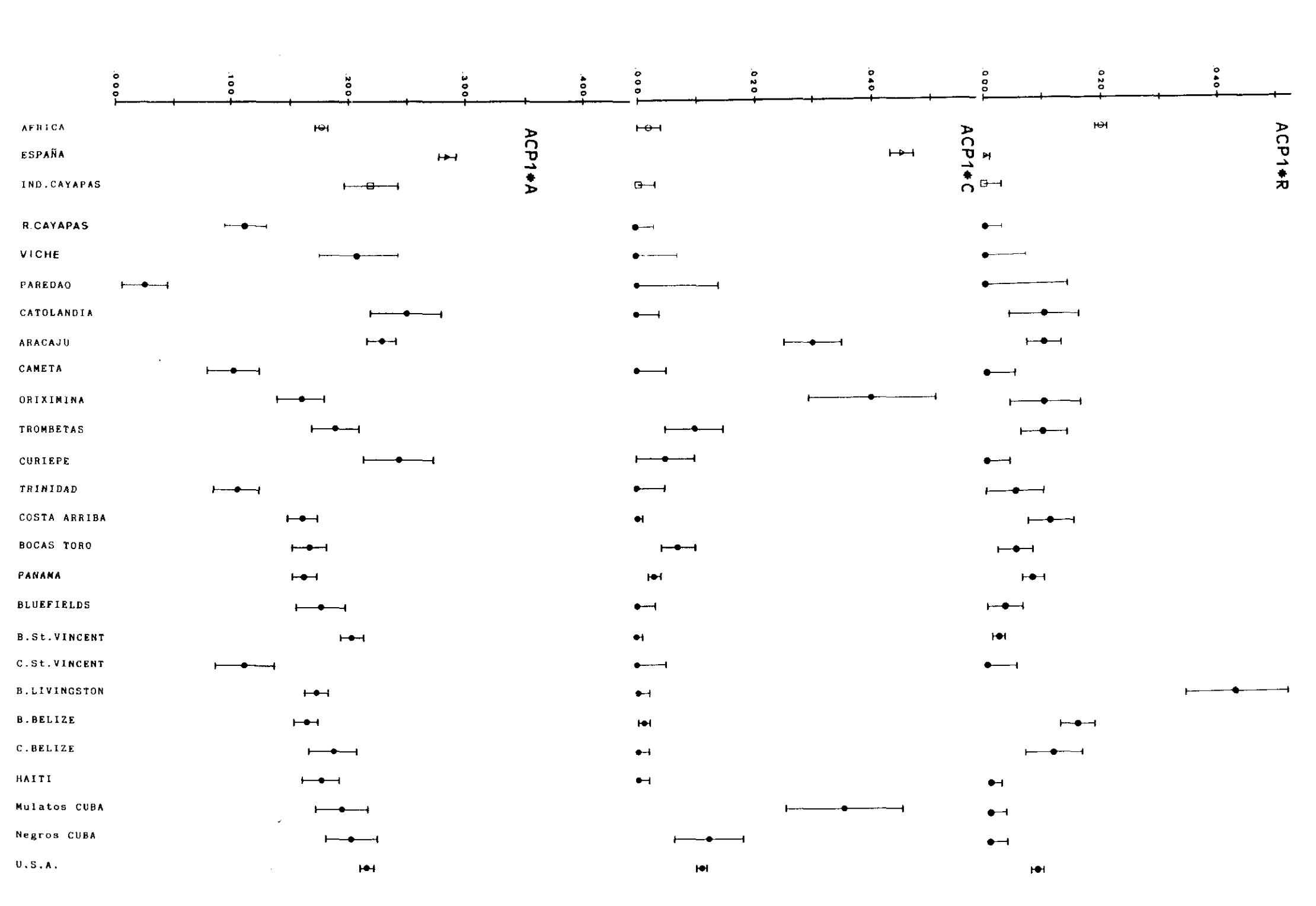

000
100
200
300
400
ACP1*A
000
020
040
ACP1*C
000
020
040
ACP1*R
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PAREDAO
CATOLANDIA
ARACAJU
CAMETA
ORIXIMINA
TROMBETAS
CURIEPE
TRINIDAD
COSTA ARRIBA
BOCAS TORO
PANAMA
BLUEFIELDS
B.St.VINCENT
C.St.VINCENT
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
C.BELIZE
HAITI
Mulatos CUBA
Negros CUBA
U.S.A.

Tabla E.8. *ADENOSINA DEAMINASA (ADA)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*ADA*1*	*ADA*2±S*	
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,991**	**0,009±0,005**	
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,993**	**0,007±0,007**	
PORTO ALEGRE (BRASIL)	1	1070	0,964	0,036±0,004	
BOCAS DE TORO (PANAMA)	2	358	0,989	0,011±0,004	
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	3	173	0,971	0,029±0,009	
B.C.LIVINGSTON (GUATEMALA)	4	205	1,000	0,000+0,002	
B.C. BELIZE	5	1175	0,990	0,010±0,002	
CREOLES BELIZE	5	204	0,996	0,004±0,003	
MULATOS CUBA	6	129	0,957	0,043±0,013	
NEGROS CUBA	6	159	0,997	0,003±0,003	
U.S.A.	7	2474	0,987	0,013±0,002	
AFRICA	8	1861	0,994	0,000+0,000	ADA*5: 0,006±0,001
ESPAÑA	9	2394	0,950	0,050±0,003	
INDIOS CAYAPAS	10	164	1,000	0,000+0,003	

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Franco *et al.*, 1982; 2: Ferrell *et al.*, 1978; 3: Biondi *et al.*, 1988; 4: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 5: Crawford *et al.*, 1984; 6: González *et al.*, 1976; 7: Gaensslen *et al.*, 1987; 8: varios (ver tabla E.6.); 9: varios (ver tabla E.5.); 10: Rickards *et al.*, 1993.

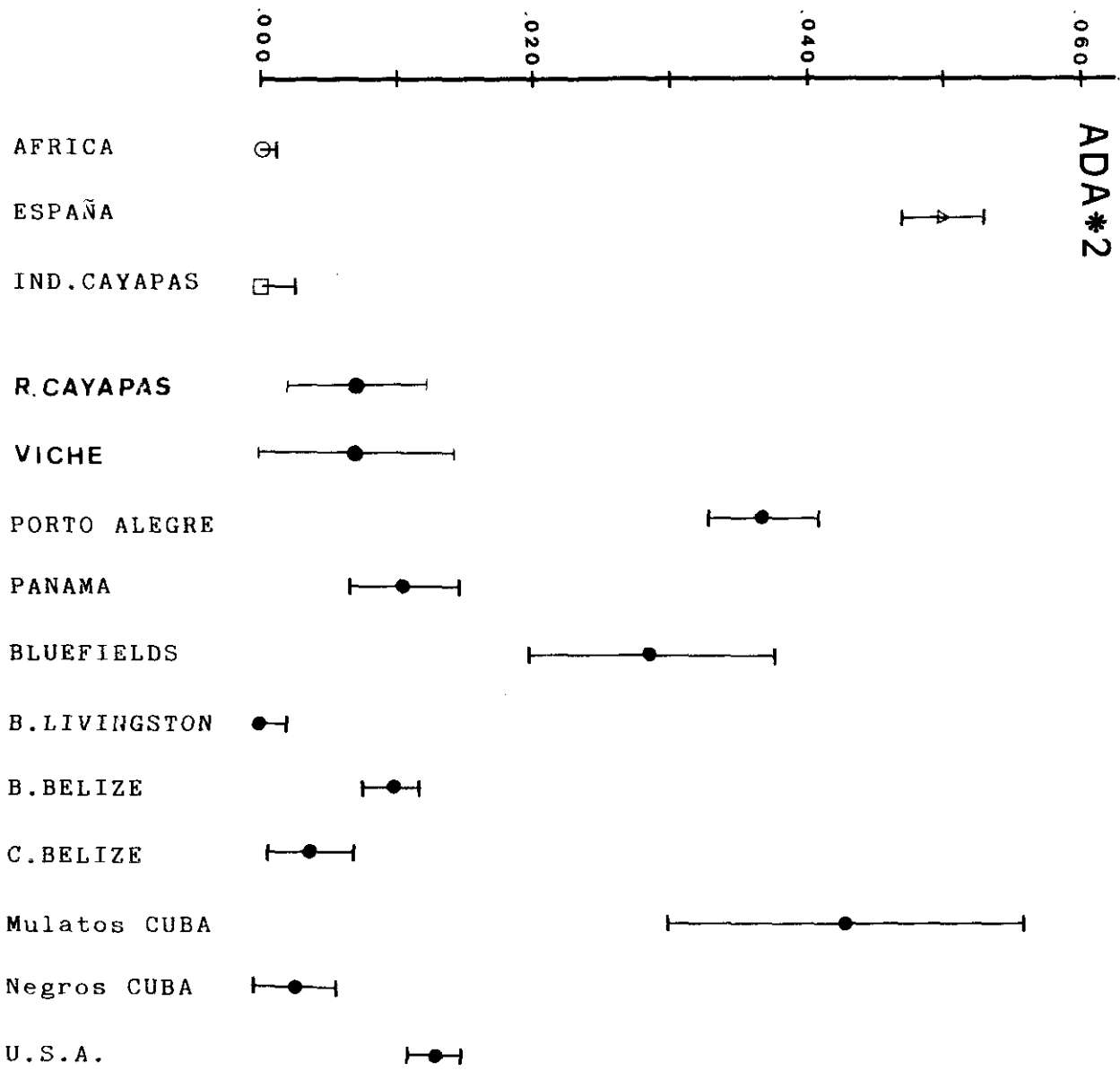

.000
.020
.040
.060
ADA*2
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PORTO ALEGRE
PANAMA
BLUEFIELDS
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
C.BELIZE
Mulatos CUBA
Negros CUBA
U.S.A.

Tabla E.9.- *ADENILATO QUINASA (AK1)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*AK1*1*	*AK1*2±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**1,000**	**0,000+0,003**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,973**	**0,027±0,014**
PORTO ALEGRE (BRASIL)	1	1070	0,985	0,015±0,003
PAREDAO (BRASIL)	2	36	1,000	0,000+0,014
CATOLANDIA (BRASIL)	3	122	0,980	0,020±0,009
CAMETA (BRASIL)	2	93	1,000	0,000+0,005
ORIXIMINA (BRASIL)	4	147	0,990	0,010±0,006
TROMBETAS (BRASIL)	5	201	1,000	0,000+0,002
NORTE BRASIL	6	485	0,984	0,016±0,004
CURIEPE (VENEZUELA)	2	96	0,995	0,005±0,005
TRINIDAD	7	123	0,984	0,016±0,008
BOCAS DE TORO (PANAMA)	8	358	0,985	0,015±0,004
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	9	173	1,000	0,000+0,002
B.C. ST. VINCENT	10	643	0,993	0,007±0,002
CREOLES ST. VINCENT	10	116	0,991	0,009±0,006
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	11	203	0,988	0,012±0,005
B.C. BELIZE	10	588	0,974	0,026±0,005
CREOLES BELIZE	10	204	0,970	0,030±0,008
HAITI	11	307	0,995	0,005±0,003
MULATOS CUBA	12	142	0,997	0,003±0,003
NEGROS CUBA	12	160	0,994	0,006±0,004
U.S.A.	13	4058	0,991	0,009±0,001
AFRICA	14	3712	0,999	0,001±0,001
ESPAÑA	15	2192	0,959	0,041±0,003
INDIOS CAYAPAS	16	154	1,000	0,000+0,003

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Franco *et al.*, 1982; 2: Bortolini *et al.*, 1992; 3: Weimer *et al.*, 1991; 4: Santos *et al.*, 1987; 5: Schneider *et al.*, 1987; 6: Azevedo, 1969; 7: Saha y Samuel, 1987; 8: Ferrell *et al.*, 1978; 9: Biondi *et al.*, 1988; 10: Crawford *et al.*, 1984; 11: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 12: González *et al.*, 1976; 13: Gaensslen *et al.*, 1987; 14: varios (ver tabla E.6.); 15: varios (ver tabla E.5.); 16: Rickards *et al.*, 1993.

AK1*2
.040
.020
.000
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PORTO ALEGRE
PAREDAO
CATOLANDIA
CAMETA
ORIXIMINA
TROMBETAS
N. BRASIL
CURIEPE
TRINIDAD
PANAMA
BLUEFIELDS
B.St.VINCENT
C.St.VINCENT
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
C.BELIZE
HAITI
Mulatos CUBA
Negros CUBA
U.S.A.

Tabla E.10.- *CARBONICO ANHIDRASA 2 (CA2)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*CA2*1*	*CA2*2±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**154**	**0,972**	**0,028±0,009**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**66**	**0,944**	**0,056±0,020**
PARINTIS (BRASIL)	1	595	0,998	0,002±0,001
CAMETA (BRASIL)	2	93	0,978	0,022±0,011
TROMBETAS (BRASIL)	3	199	0,890	0,110±0,016
NEGROS MAROONS JAMAICA	4	200	0,912	0,088±0,014
BLACK CARIBS HONDURAS	4	58	1,000	0,000+0,009
U.S.A.	5	2659	0,903	0,097±0,004
AFRICA	6	1871	0,902	0,098±0,005
ESPAÑA	7	506	1,000	0,000+0,001
INDIOS CAYAPAS	8	164	1,000	0,000+0,003

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Schüler *et al.*, 1982; 2: Bortolini *et al.*, 1992; 3: Schneider *et al.*, 1987; 4: Tashian y Carter, 1976; 5: Gaensslen *et al.*, 1987; 6: varios (ver tabla E.6.); 7: varios (ver tabla E.5.); 8: Rickards *et al.*, 1993.

CA2*2
.200
.100
.050
.000
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PARINTINS
CAMETA
TROMBETAS
B. JAMAICA
B. HONDURAS
U.S.A.

Tabla E.11.- *ESTERASA D (ESD)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*ESD*1*	*ESD*2±S*	
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,954**	**0,046±0,011**	
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,885**	**0,115±0,027**	
PAREDAO (BRASIL)	1	36	0,722	0,278±0,053	
CATOLANDIA (BRASIL)	2	122	0,780	0,220±0,026	
ARACAJU (BRASIL)	3	580	0,990	0,110±0,009	
PARINTIS (BRASIL)	4	595	0,774	0,223±0,026	
CAMETA (BRASIL)	1	93	0,839	0,161±0,008	
ORIXIMINA (BRASIL)	5	147	0,840	0,160±0,021	
TROMBETAS (BRASIL)	6	200	0,910	0,090±0,014	
CURIEPE (VENEZUELA)	1	95	0,895	0,105±0,022	
TRINIDAD	7	68	0,757	0,243±0,037	
COSTA ARRIBA (PANAMA)	8	423	0,905	0,095±0,010	
BOCAS DE TORO (PANAMA)	8	358	0,933	0,067±0,009	
PANAMA	8	781	0,918	0,082±0,006	
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	9	173	0,913	0,087±0,015	
B.C. ST. VINCENT	10	145	0,912	0,088±0,013	
CREOLES ST. VINCENT	10	112	0,978	0,022±0,010	
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	11	199	0,912	0,088±0,014	
B.C. BELIZE	10	590	0,937	0,063±0,007	
CREOLES BELIZE	10	204	0,935	0,065±0,012	
U.S.A.	12	3210	0,912	0,088±0,003	
AFRICA	13	2812	0,936	0,064±0,003	
ESPAÑA	14	4277	0,877	0,121±0,003	ESD*5: 0,002±0,001
INDIOS CAYAPAS	15	164	0,747	0,253±0,024	

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Bortolini *et al.*, 1992; 2: Weimer *et al.*, 1990; 3: Conceiçao *et al.*, 1987; 4: Schüler *et al.*, 1982; 5: Santos *et al.*, 1987; 6: Schneider *et al.*, 1987; 7: Saha y Samuel, 1987; 8: Ferrell *et al.*, 1978; 9: Biondi *et al.*, 1988; 10: Crawford *et al.*, 1984; 11: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 12: Gaensslen *et al.*, 1987; 13: varios (ver tabla E.6.); 14: varios (ver tabla E.5.); 15: Rickards *et al.*, 1993.

ESD*2
.400
.300
.200
.100
.000
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PAREDAO
CATOLANDIA
ARACAJU
PARINTINS
CAMETA
ORIXIMINA
TROMBETAS
CURIEPE
TRINIDAD
COSTA ARRIBA
BOCAS TORO
PANAMA
BLUEFIELDS
B.St.VINCENT
C.St.VINCENT
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
C.BELIZE
U.S.A.

Tabla E.12.- *GLIOXALASA 1 (GLO1)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*GLO1*2*	*GLO1*1±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,556**	**0,444±0,027**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,704**	**0,296±0,039**
PAREDAO (BRASIL)	1	36	0,611	0,389±0,057
CATOLANDIA (BRASIL)	2	56	0,571	0,429±0,047
CAMETA (BRASIL)	1	93	0,683	0,317±0,034
CURIEPE (VENEZUELA)	1	96	0,594	0,406±0,035
TRINIDAD	3	91	0,698	0,302±0,034
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	4	169	0,607	0,393±0,026
MULATOS CUBA	5	194	0,647	0,353±0,024
NEGROS CUBA	5	58	0,776	0,224±0,039
U.S.A.	6	1825	0,681	0,319±0,008
AFRICA	7	2605	0,684	0,316±0,006
ESPAÑA	8	2890	0,518	0,482±0,007
INDIOS CAYAPAS	9	164	0,689	0,311±0,026

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Bortolini *et al.*, 1992; 2: Weimer *et al.*, 1990; 3: Saha y Samuel, 1987; 4: Biondi *et al.*, 1988; 5: García *et al.*, 1976; 6: Gaensslen *et al.*, 1987; 7: varios (ver tabla E.6.); 8: varios (ver tabla E.5.); 9: Rickards *et al.*, 1993.

GLO1*1
.500
.400
.300
.200
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PAREDAO
CATOLANDIA
CAMETA
CURIEPE
TRINIDAD
BLUEFIELDS
Mulatos CUBA
Negros CUBA
U.S.A.

Tabla E.13.-

GLUCOSA-6-FOSFATO-DESHIDROGENASA

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*GD*B±S*	*GD*A±S*	*GD*A-±S*	
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**90**	**0,744±0,046**	**0,145±0,037**	**0,089±0,030**	
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**29**	**0,759±0,079**	**0,103±0,056**	**0,138±0,064**	
PORTO ALEGRE (BRASIL)	1	278	0,852±0,021	0,083±0,016	0,061±0,014	MED: 0,004
PAREDAO (BRASIL)	2	17	0,647±0,116	0,235±0,103	0,118±0,078	
ITAPARICA (BRASIL)	3	115	0,731±0,041	0,217±0,038	0,052±0,021	
BAHIA (BRASIL)	4	367	0,777±0,022	0,103±0,016	0,104±0,016	MED: 0,016
ARACAJU (BRASIL)	5	307	0,840±0,021	0,070±0,014	0,090±0,016	
CAMETA (BRASIL)	2	38	0,868±0,055	0,053±0,036	0,079±0,044	
ORIXIMINA (BRASIL)	6	44	0,909±0,043	0,091±0,043	0,000±0,022	
TROMBETAS (BRASIL)	7	84	0,857±0,038	0,048±0,023	0,095±0,032	
NEGROS BUSH (SURINAM)	8	256	0,617±0,030	0,250±0,027	0,133±0,021	MED: 0,020
CURIEPE (VENEZUELA)	2	41	0,780±0,065	0,220±0,065	0,000±0,024	
MARTINICA	8	33	0,788±0,071	0,182±0,067	0,030±0,030	
GUADALUPE	8	43	0,674±0,106	0,186±0,059	0,140±0,053	
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	9	173	0,809±0,030	0,069±0,019	0,122±0,025	
BLACK CARIBS BELIZE	10	107	0,663±0,046	0,159±0,035	0,178±0,037	
JAMAICA	11	202	0,653±0,033	0,208±0,028	0,139±0,024	
MULATOS CUBA	12	371	0,829±0,019	0,106±0,016	0,065±0,013	
NEGROS CUBA	12	404	0,745±0,022	0,156±0,018	0,099±0,015	
U.S.A.	13	1897	0,690±0,011	0,177±0,009	0,133±0,008	
AFRICA	14	2491	0,638±0,009	0,226±0,008	0,136±0,007	
ESPAÑA	15	2671	0,997±0,001	0,000+0,001	0,000+0,001	MED:0,003
INDIOS CAYAPAS	16	164	1,000-0,006	0,000+0,006	0,000+0,006	

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Franco *et al.*, 1982; 2: Bortolini *et al.*, 1992; 3: Azevedo *et al.*, 1981; 4: Azevedo *et al.*, 1980; 5: Conceiçao *et al.*, 1987; 6: Santos *et al.*, 1987; 7: Schneider *et al.*, 1987; 8: Livingston, 1985; 9: Biondi *et al.*, 1988; 10 Crawford *et al.*, 1984; 11: Gibbs *et al.*, 1972; 12: González *al.*, 1976; 13: Gaensslen *et al.*, 1987; 14: varios (ver tabla E.6.); 15: varios (ver tabla E.5.); 16: Rickards *et al.*, 1993.

G6PD*A
G6PD*A⁻
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PORTO ALEGRE
PAREDAO
ITAPARICA
BAHIA
ARACAJU
CAMETA
ORIXIMINA
TROMBETAS
BUSH SURINAM
CURIEPE
MARTINICA
GUADALUPE
BLUEFIELDS
B.BELIZE
JAMAICA
Mul. CUBA
Neg. CUBA
U.S.A.
000
100
200
000
200
400

Tabla E.14.- *FOSFOGLUCONATO DESHIDROGENASA (PGD)*

POBLACION	*REF.*[1]	*N*	*PGD*A*	*PGD*C±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,953**	**0,047±0,012**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,990**	**0,010±0,008**
PORTO ALEGRE (BRASIL)	1	1060	0,974	0,026±0,003
PAREDAO (BRASIL)	2	36	0,986	0,014±0,014
ITAPARICA (BRASIL)	3	293	0,976	0,024±0,006
ARACAJU (BRASIL)	4	581	0,954	0,046±0,006
CAMETA (BRASIL)	2	93	0,989	0,011±0,008
ORIXIMINA (BRASIL)	5	147	0,980	0,020±0,008
TROMBETAS (BRASIL)	6	200	0,990	0,010±0,001
NORTE BRASIL	7	468	0,970	0,030±0,005
CURIEPE (VENEZUELA)	2	96	0,995	0,005±0,002
TRINIDAD	8	107	0,991	0,009±0,006
COSTA ARRIBA (PANAMA)	9	402	0,946	0,054±0,008
BOCAS DE TORO (PANAMA)	9	358	0,929	0,071±0,009
PANAMA	9	760	0,938	0,062±0,006
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	10	172	0,936	0,064±0,013
B.C. ST. VINCENT	11	209	0,995	0,005±0,003
CREOLES ST. VINCENT	11	34	0,971	0,029±0,020
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	12	203	0,983	0,017±0,006
B.C. BELIZE	11	1165	0,976	0,024±0,003
CREOLES BELIZE	11	202	0,950	0,050±0,011
HAITI	13	306	0,941	0,059±0,009
MULATOS CUBA	14	140	0,957	0,043±0,012
NEGROS CUBA	14	158	0,981	0,019±0,008
U.S.A.	15	4370	0,959	0,041±0,002
AFRICA	16	4272	0,963	0,037±0,002
ESPAÑA	17	3297	0,978	0,022±0,002
INDIOS CAYAPAS	18	164	1,000	0,000+0,003

REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Franco *et al.*, 1982; 2: Bortolini *et al.*, 1992; 3: Weimer *et al.*, 1990; 4: Conceiçao *et al.*, 1987; 5: Santos *et al.*, 1987; 6: Schneider *et al.*, 1987; 7: Saha y Samuel, 1987; 8: Ferrell *et al.*, 1978; 9: Biondi *et al.*, 1988; 10: Crawford *et al.*, 1984, Hutchinson, 1986; 11: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 12: Basu *et al.*, 1976; 13: González *et al.*, 1976; 14: Gaensslen *et al.*, 1987; 15: varios (ver tabla E.6.); 16: varios (ver tabla E.5.); 17: Rickards *et al.*, 1993.

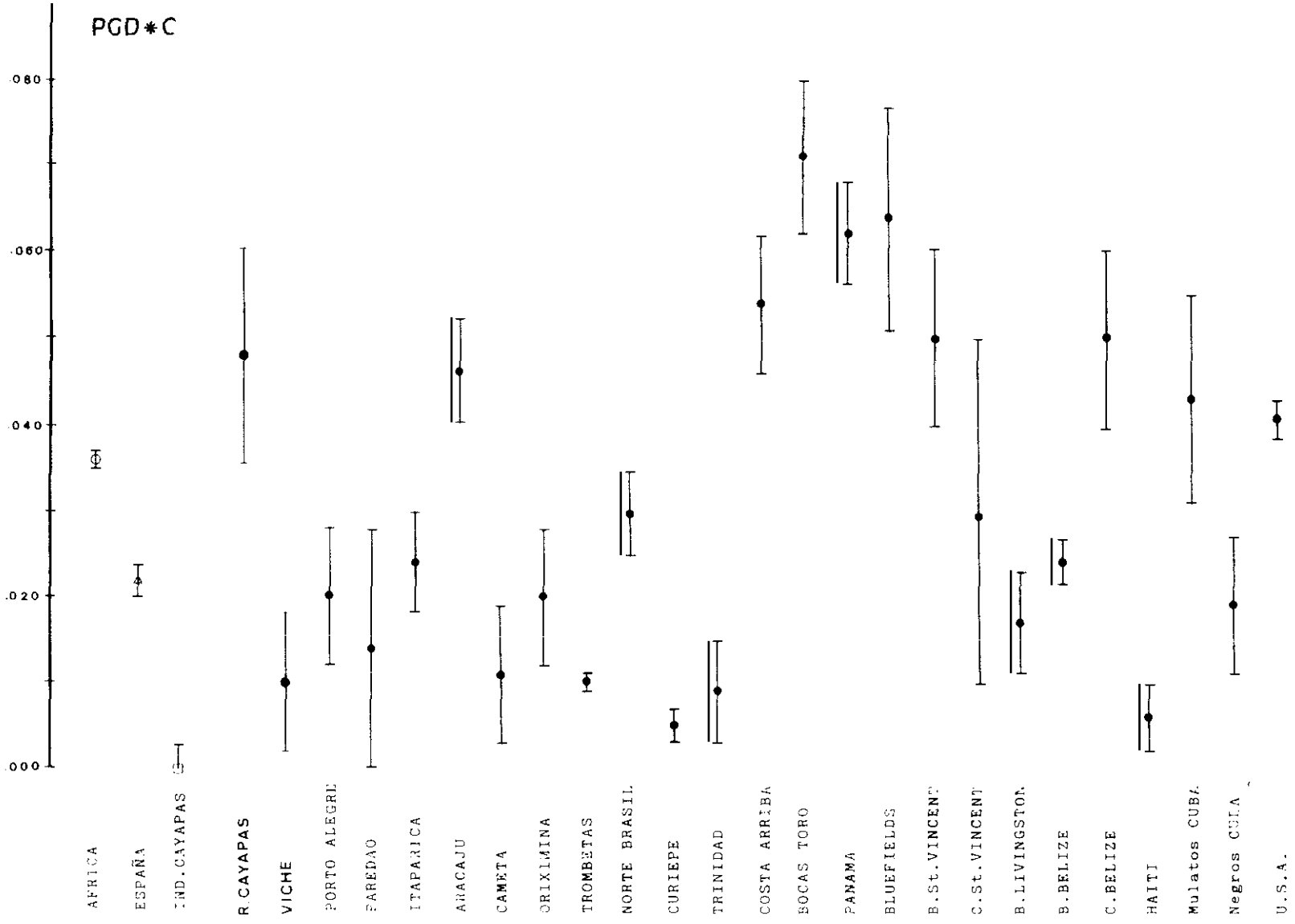


Tabla E.15.- *FOSFOGLUCOMUTASA 1 (PGM1)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*PGM1*1*	*PGM1*2±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,860**	**0,140±0,019**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,868**	**0,132±0,029**
PORTO ALEGRE (BRASIL)	1	1031	0,780	0,220±0,009
PAREDAO (BRASIL)	2	33	0,758	0,242±0,053
CATOLANDIA	3	122	0,725	0,275±0,028
ARACAJU (BRASIL)	4	580	0,780	0,220±0,012
CAMETA (BRASIL)	2	93	0,850	0,150±0,026
ORIXIMINA (BRASIL)	5	147	0,820	0,180±0,022
TROMBETAS (BRASIL)	6	201	0,800	0,200±0,020
CURIEPE (VENEZUELA)	2	93	0,855	0,145±0,026
TRINIDAD	7	107	0,707	0,293±0,031
COSTA ARRIBA (PANAMA)	8	422	0,795	0,205±0,014
BOCAS DE TORO (PANAMA)	8	358	0,791	0,209±0,015
PANAMA	8	780	0,793	0,207±0,010
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	9	173	0,798	0,202±0,022
B.C. ST. VINCENT	10	640	0,794	0,206±0,011
CREOLES ST. VINCENT	10	118	0,763	0,237±0,028
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	11	199	0,879	0,121±0,016
B.C. BELIZE	10	193	0,812	0,188±0,020
CREOLES BELIZE	10	1186	0,855	0,145±0,007
HAITI	12	308	0,776	0,224±0,017
MULATOS CUBA	13	143	0,780	0,220±0,024
NEGROS CUBA	13	166	0,795	0,205±0,022
U.S.A.	14	5222	0,803	0,197±0,004
AFRICA	15	5165	0,820	0,180±0,005
ESPAÑA	16	4093	0,737	0,263±0,005
INDIOS CAYAPAS	17	164	0,692	0,308±0,025

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Franco *et al.*, 1982; 2: Bortolini *et al.*, 1992; 3: Azevedo *et al.*, 1981; 4: Conceiçao *et al.*, 1987; 5: Santos *et al.*, 1987; 6: Schneider *et al.*, 1987; 7: Azevedo, 1969; 8: Saha y Samuel, 1987; 9: Ferrell *et al.*, 1978; 10: Biondi *et al.*, 1988; 11: Crawford *et al.*, 1984; 12: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 13: Basu *et al.*, 1976; 14: González *et al.*, 1976; 15: Gaensslen *et al.*, 1987; 16: varios (ver tabla E.6.); 17: varios (ver tabla E.5.); 18: Rickards *et al.*, 1993.

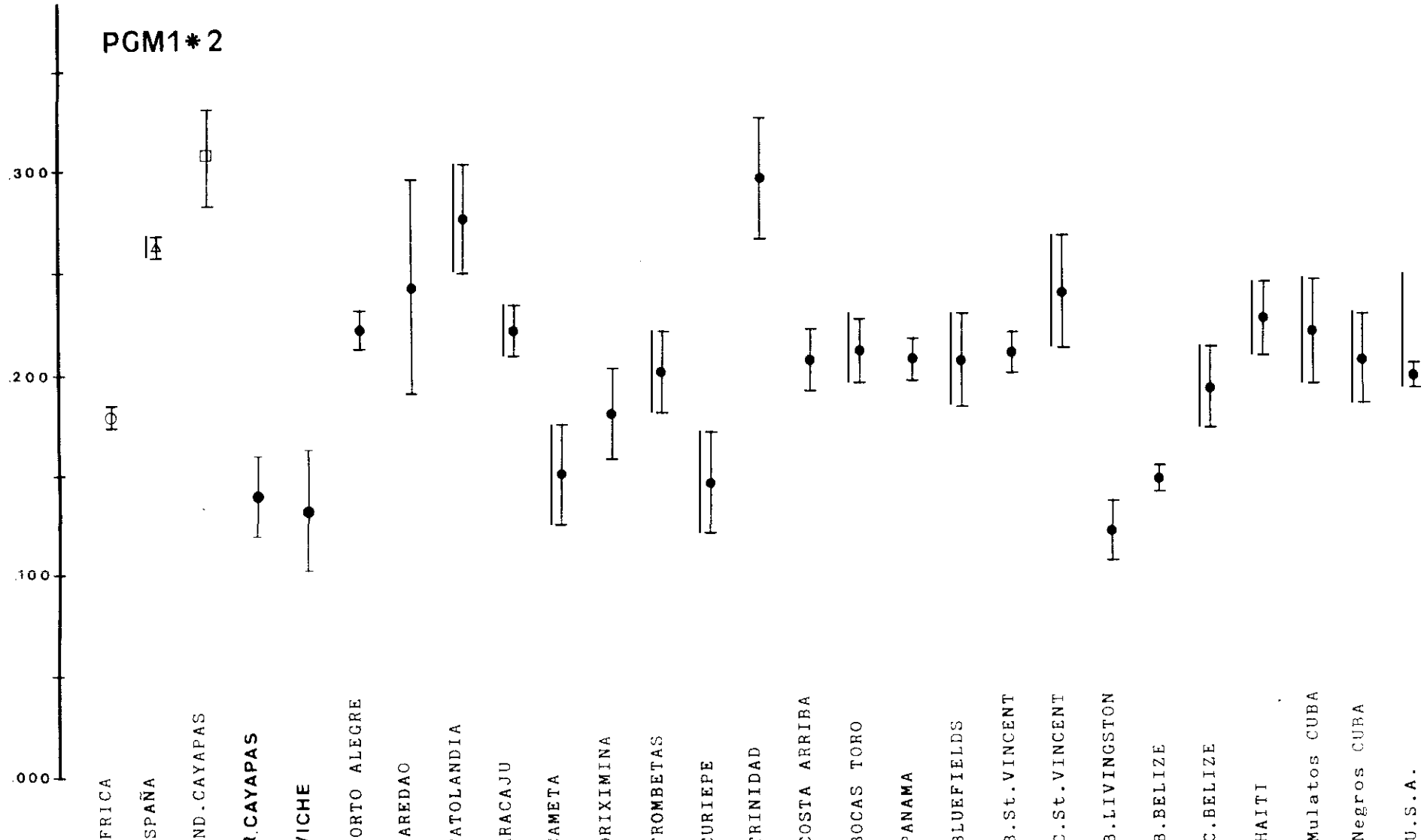


Tabla E.16.- *FOSFOGLUCOMUTASA 2 (PGM2)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*PGM2*1*	*PGM2*2±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**156**	**0,997**	**0,003±0,003**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**1,000**	**0,000+0,007**
PORTO ALEGRE (BRASIL)	1	1030	0,995	0,005±0,001
ARACAJU (BRASIL)	2	580	0,998	0,002±0,001
CAMETA (BRASIL)	3	93	0,978	0,022±0,011
ORIXIMINA (BRASIL)	4	142	1,000	0,000+0,003
TROMBETAS (BRASIL)	5	195	1,000	0,000+0,003
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	6	172	0,997	0,003±0,003
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	7	200	1,000	0,000+0,002
B.C. BELIZE	8	193	1,000	0,000+0,002
CREOLES BELIZE	8	193	1,000	0,000+0,002
HAITI	9	308	0,994	0,006±0,003
AFRICA	10	2338	0,995	0,005±0,001
ESPAÑA	11	572	1,000	0,000+0,001
INDIOS CAYAPAS	12	164	1,000	0,000+0,003

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Franco *et al.*, 1982; 2: Conceiçao *et al.*, 1987; 3: Bortolini *et al.*, 1992; 4: Santos *et al.*, 1987; 5: Schneider *et al.*, 1987; 6: Biondi *et al.*, 1988; 7: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 8: Crawford *et al.*, 1984; 9: Basu *et al.*, 1976; 10: varios (ver tabla E.6.); 11: varios (ver tabla E.5.); 12: Rickards *et al.*, 1993.

PGM2*2
.030
.025
.020
.015
.010
.005
.000
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PORTO ALEGRE
ARACAJU
CAMETA
ORIXIMINA
TROMBETAS
BLUEFIELDS
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
C.BELIZE
HAITI

Tabla E.17.- *FOSFOGLUCOMUTASA-IEF*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*PGM1*1A±S*	*PGM1*1B±S*	*PGM1*2A±S*	*PGM1*2B±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**155**	**0,693±0,025**	**0,167±0,020**	**0,108±0,017**	**0,032±0,010**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,578±0,041**	**0,289±0,037**	**0,083±0,023**	**0,050±0,018**
PAREDAO (BRASIL)	1	33	0,500±0,061	0,258±0,054	0,197±0,049	0,045±0,025
CURIEPE (VENEZUELA)	1	93	0,618±0,036	0,237±0,031	0,124±0,024	0,021±0,010
TRINIDAD	2	107	0,584±0,034	0,108±0,021	0,224±0,028	0,065±0,017
B.C. ST.VINCENT	3	267	0,455±0,021	0,367±0,021	0,137±0,015	0,032±0,008
CREOLES ST.VINCENT	3	118	0,538±0,032	0,225±0,027	0,186±0,025	0,051±0,014
B.C. LIVINGSTON (GUATEMALA)	4	215	0,645±0,023	0,230±0,020	0,122±0,016	0,003±0,003
B.C. BELIZE	3	274	0,567±0,021	0,283±0,019	0,125±0,014	0,025±0,007
U.S.A.	5	1166	0,652±0,010	0,140±0,007	0,164±0,008	0,044±0,004
AFRICA	6	2280	0,756±0,006	0,069±0,004	0,148±0,005	0,027±0,002
ESPAÑA	7	2998	0,620±0,006	0,114±0,004	0,209±0,005	0,057±0,003
INDIOS CAYAPAS	8	164	0,116±0,018	0,576±0,027	0,003±0,003	0,305±0,025

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Bortolini *et al.*, 1992; 2: Saha y Samuel, 1987; 3: Crawford *et al.*, 1984; 4: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 5: Gaensslen *et al.*, 1987; 6: varios (ver tabla E.6.); 7: varios (ver tabla E.5.); 8: Rickards *et al.*, 1993.

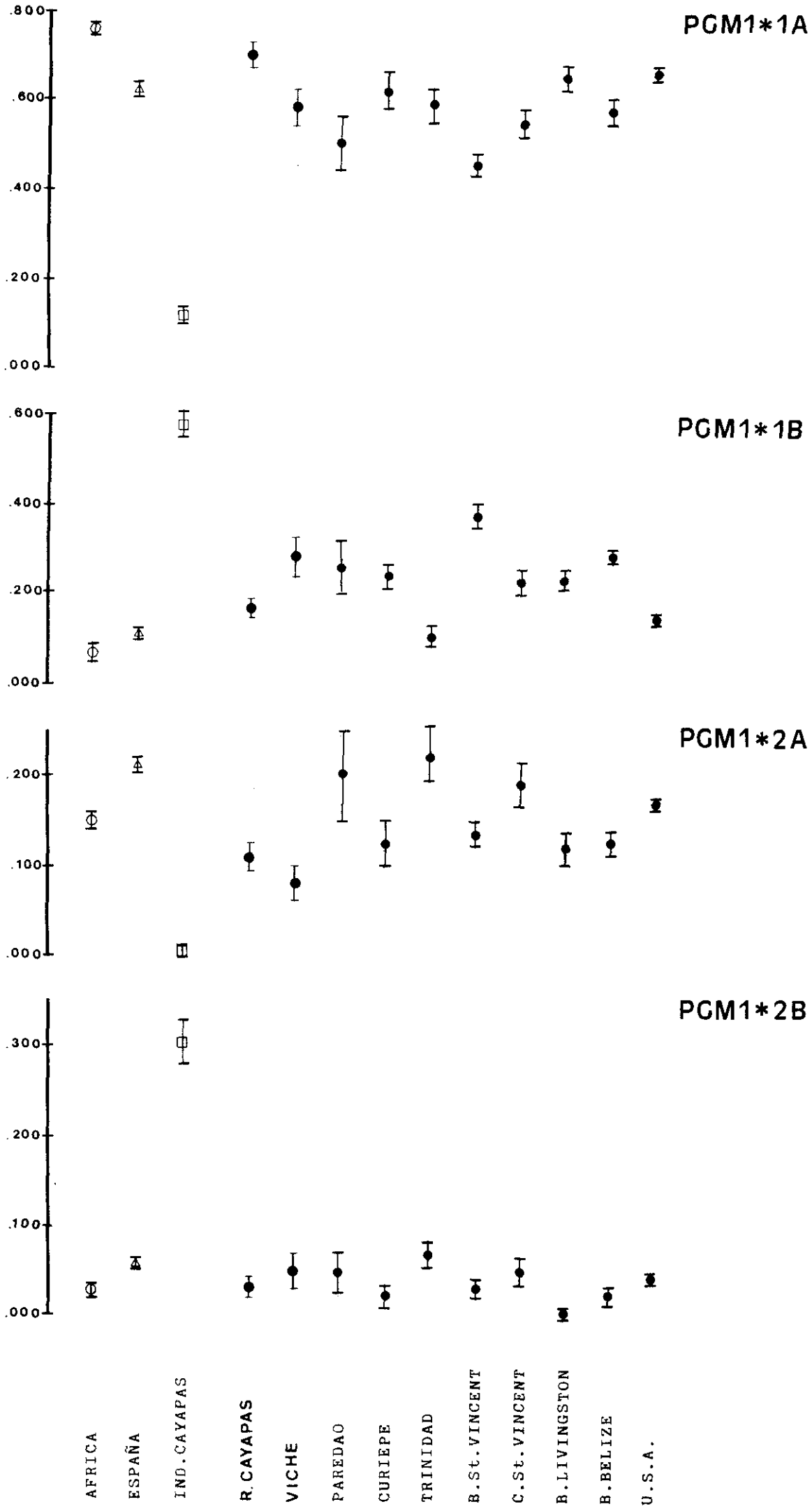

PGM1*1A
.800
.600
.400
.200
.000
PGM1*1B
.600
.400
.200
.000
PGM1*2A
.200
.100
.000
PGM1*2B
.300
.200
.100
.000
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
PAREDAO
CURIEPE
TRINIDAD
B.St.VINCENT
C.St.VINCENT
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
U.S.A.

Tabla E.18.- *HEMOGLOBINA (HBß)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*HBß*A*	*HBß*S±S*	*HBßC±S*
RIO CAYAPAS (ECUADOR)	**p.e.**	**155**	**0,815**	**0,049±0,012**	**0,136±0,019**
VICHE (ECUADOR)	**p.e.**	**68**	**0,939**	**0,047±0,017**	**0,014±0,009**
ESMERALDAS (ECUADOR)	1	1734	0,867	0,106±0,005	0,028±0,003
CHOTA (ECUADOR)	1	304	0,947	0,048±0,009	0,005±0,003
COLOMBIA	2	3436	0,898	0,047±0,002	0,055±0,003
PORTO ALEGRE (BRASIL)	3	757	0,983	0,016±0,003	0,001±0,001
PAREDAO (BRASIL)	4	28	0,964	0,000+0,018	0,036±0,025
ITAPARICA (BRASIL)	5	293	0,939	0,039±0,008	0,022±0,006
CATOLANDIA (BRASIL)	6	122	0,975	0,025±0,010	0,000+0,004
BAHIA (BRASIL)	7	1200	0,946	0,037±0,004	0,017±0,003
ARACAJU (BRASIL)	8	580	0,970	0,020±0,004	0,010±0,003
NATAL (BRASIL)	9	748	0,990	0,009±0,002	0,001±0,001
COARI (BRASIL)	10	733	0,989	0,010±0,003	0,001±0,001
MANAUS (BRASIL)	11	377	0,988	0,009±0,003	0,003±0,002
PARINTINS (BRASIL)	12	595	0,996	0,004±0,002	0,000+0,001
CAMETA (BRASIL)	4	93	0,995	0,005±0,005	0,000+0,005
ORIXIMINA (BRASIL)	13	196	0,985	0,015±0,006	0,000+0,002
TROMBETAS (BRASIL)	14	201	0,940	0,060±0,012	0,000+0,003
TOTAL BRASIL	15	6460	0,962	0,036±0,002	0,002±0,0003
MULATOS BRASIL	15	3529	0,967	0,030±0,002	0,003±0,001
CREOLES GUAYANA FRANCESA	15	447	0,949	0,044±0,009	0,007±0,003
SURINAM	15	336	0,941	0,052±0,008	0,007±0,003
NEGROS BUSH SURINAM	15	2159	0,896	0,082±0,004	0,022±0,002
CREOLES SURINAM	15	1522	0,933	0,060±0,004	0,007±0,001
CURIEPE (VENEZUELA)	4	92	0,962	0,027±0,012	0,011±0,008
VENEZUELA	15	3162	0,966	0,032±0,002	0,002±0,001
TRINIDAD	16	204	0,938	0,047±0,010	0,015±0,006
MARTINICA	15	111	0,950	0,036±0,012	0,014±0,008
GUADALUPE	15	10356	0,949	0,041±0,001	0,009±0,001
MULATOS GUADALUPE	15	1339	0,958	0,032±0,003	0,010±0,002

Tabla E.18. (Cont.) *HEMOGLOBINA (HBß)*

POBLACION	*REF*[1].	*N*	*HBß*A*	*HBß*S±S*	*HBßC±S*
COSTA ARRIBA (PANAMA)	17	421	0,910	0,081±0,009	0,010±0,003
BOCAS DE TORO (PANAMA)	17	356	0,920	0,055±0,008	0,025±0,006
PANAMA	17	777	0,914	0,069±0,006	0,017±0,003
COSTA RICA	15	349	0,940	0,060±0,009	0,000+0,001
BLUEFIELDS (NICARAGUA)	18	173	0,939	0,052±0,012	0,009±0,005
B.C.ST.VINCENT	19	272	0,984	0,013±0,005	0,003±0,002
CREOLES ST. VINCENT	19	111	0,895	0,086±0,019	0,000+0,008
B.CARIBS HONDURAS	15	1731	0,939	0,057±0,004	0,004±0,001
B.C.LIVINGSTON (GUATEM.)	20	352	0,918	0,082±0,010	0,000±0,001
B.C. BELIZE	19	2352	0,913	0,080±0,004	0,007±0,001
CREOLES BELIZE	19	204	0,941	0,054±0,011	0,005±0,003
PUERTO RICO	15	790	0,965	0,028±0,004	0,007±0,002
MULATOS PUERTO RICO	15	167	0,958	0,042±0,011	0,000+0,003
DOMINICA	15	65	0,931	0,069±0,022	0,000+0,008
CREOLES DOMINICA	15	138	0,971	0,029±0,010	0,000+0,004
HAITI	15	463	0,934	0,058±0,008	0,008±0,003
JAMAICA	15	391	0,919	0,060±0,008	0,021±0,005
CUBA	15	790	0,960	0,032±0,004	0,008±0,002
MULATOS CUBA	15	145	0,955	0,021±0,008	0,024±0,009
U.S.A.	15	808608	0,949	0,042±0,0002	0,009±0,0001
AFRICA	21	9470	0,859	0,087±0,002	0,054±0,002
ESPAÑA	22		1,000	0,000	0,000
INDIOS CAYAPAS	23	164	1,000	0,000±0,003	0,000±0,003

[1] REFERENCIAS.- p.e.: presente estudio; 1: Monsalve *et al.*, 1987; 2: Guevara *et al.*, 1991; 3: Franco *et al.*, 1982; 4: Bortolini *et al.*, 1992; 5: Azevedo *et al.*, 1981; 6: Weimer *et al.*, 1991; 7: Azevedo *et al.*, 1980; 8: Conceiçao *et al.*, 1987; 9: Franco *et al.*, 1982; 10: Rosa *et al.*, 1984; 11: Santos *et al.*, 1983; 12: Schüler *et al.*, 1982; 13: Santos *et al.*, 1987; 14: Schneider *et al.*, 1987; 15: Livingston, 1985; 16: Saha y Samuel, 1987; 17: Ferrell *et al.*, 1978; 18: Biondi *et al.*, 1988; 19: Crawford *et al.*, 1984; 20: Crawford *et al.*, 1981, 1984; 21: varios (ver tabla E.6.); 22: Casado (1992); 23: Rickards *et al.*, 1993.

000
020
040
060
080
100
110
HBß*S
AFRICA
ESPAÑA
IND.CAYAPAS
R.CAYAPAS
VICHE
ESMERALDAS
CHOTA
COLOMBIA
PORTO ALEGRE
PAREDAO
ITAPARICA
CATOLANDIA
BAHIA
ARACAJU
NATAL
COARI
MANAUS
PARINTINS
CAMETA
ORIXIMINA
TROMBETAS
BRASIL
Mul.BRASIL
C.GUYANA FR.
SURINAM
N.BUSH SURINAM
C.SURINAM
CURIEPE
VENEZUELA
TRINIDAD
MARTINICA
GUADALUPE
Mul.GUADALUPE
COSTA ARRIBA
BOCAS TORO
PANAMA
COSTA RICA
BLUEFIELDS
B.St.VINCENT
C.St.VINCENT
B.HONDURAS
B.LIVINGSTON
B.BELIZE
C.BELIZE
PUERTO RICO
Mul.PTO.RICO
DOMINICA
C.DOMINICA
HAITI
JAMAICA
CUBA
Mulatos CUBA
U.S.A.

000
020
040
060
080
100
120
140
HBß*C

E.1.3.2. ANALISIS DE FRECUENCIAS

De manera general, las dos comunidades analizadas se encuentran dentro del rango de variación de las frecuencias de las comunidades afro-americanas, que, como se puede observar en los gráficos, resultan heterogéneas para la mayoría de los polimorfismos estudiados.

En cuanto a los alelos AK1*2, ADA*2 y ACP1*C (Figuras E.7., E.6. y E.5.), que son marcadores típicos de poblaciones caucasoides, (donde unicamente aparecen con frecuencias significativas) presentan, salvo excepciones, una incidencia muy baja en las poblaciones afro-americanas. En estas poblaciones, el locus ACP1*C, sólo está presente con frecuencias relativamente importantes (en torno al 4%) en las comunidades de Aracaju, Oriximina y en los mulatos de Cuba. Respecto al alelo AK1*2 en la comunidad de Rio Cayapas no se ha encontrado, mientras que en Viche alcanza uno de los valores más altos (2,7%), si bien, el error standard es muy elevado. Para el alelo ADA*2 aparece mayor variabilidad, con frecuencias entre el 0 y 5%. Es este caso tanto Rio Cayapas como Viche presentan frecuencias muy bajas (en torno al 0,05%) y muy similares a la mayor parte de las otras comunidades afro-americanas, a diferencia de los mulatos de Cuba, Porto Alegre y Bluefields que presentan frecuencias claramente más elevadas, y más similares a las descritas para España.

Respecto a los alelos característicos de poblaciones negroides, el ACP1*R que alcanza una frecuencia media del 2% en Africa (Fig.E.5.) está ausente o con frecuencia muy baja (alrededor del 1%) en todas las comunidades afro-americanas, excepto los "Black Caribs" de Livingston (que presentan una frecuencia en torno

al 4%). Para el alelo CA2*2 existen pocos datos, dado que se trata de un polimorfismo descubierto, relativamente, hace poco tiempo (Moore *et al.*, 1971). Existen diferencias entre las comunidades afro-americanas, un grupo de poblaciones que presenta frecuencias entre 0 y 5% , entre las cuales aparecen las comunidades de Viche y de Rio Cayapas, mientras que las comunidades de USA y Trombetas presentan frecuencias en torno al 10%, muy similares a la de Africa. Referente a los alelos G6PD*A y G6PD*A- existe una gran variación. Podriamos destacar que las comunidades de Oriximina y Curiepe no presentan el déficit típico de poblaciones negroides, mientras que las comunidades brasileñas de Porto Alegre y Bahía, y los negros Bush de Surinam, presentan variantes deficitarias típicas de poblaciones mediterráneas (ver tabla E.13.). Existen, también, datos sobre la presencia de deficit, sin ser especificado el tipo (A- o B-), para comunidades negras de Colombia y Ecuador (Rio Santiago, ciudad de Esmeraldas y valle de Chota) (Tabla E.19.).

Tabla E.19.- *Frecuencia de deficit para la G6PD en distintas comunidades afroamericanas de Ecuador y Colombia.*

	Deficit G6PD	*Referencia*
COLOMBIA	12,7%	Monsalve *et al.*, 1987
RIO SANTIAGO	14,2%	Guevara *et al.*, 1991
ESMERALDAS	18,1%	"
CHOTA	5,9%	"

La frecuencia del deficit no se distingue de forma significativa entre las comunidades de Colombia y de la provincia de Esmeraldas (Rio Santiago, ciudad de Esmeraldas, Rio Cayapas y Viche), mientras que es significativamente distinta ($p < 0,001$) para la comunidad afro-americana del valle de Chota (Ecuador), que

es la única comunidad de sierra que vive a 2000 m de altura en un área no endémica para la malaria (Guderian *et al.,* 1988).

También la HB*C y HB*S (Fig. E.16.) presentan frecuencias bastante heterogéneas en las distintas comunidades y es de reseñar el caso de la comunidad de Rio Cayapas, que alcanza valores extremadamente altos (13,4%) para el alelo HB*C, incluso, más altos que los de Africa, lo cual podría estar relacionado, muy probablemente, con el efecto de la deriva provocado por el aislamiento de la población, por efecto de fundadores, o bien, por efecto de muestreo, ya que, cabe señalar, que en el estudio llevado a cabo por Jara *et al.,* (1989) en la provincia de Esmeraldas, aparecen frecuencias para el alelo HBß*C del 2,8%.

Por último, para el alelo PGM2*2 (Fig. E.14.) cabe indicar que, además de haberse encontrado raras veces en población africana (0,5%), también se ha identificado en la comunidad de Rio Cayapas, Bluefields, Porto Alegre y Aracaju con una frecuencia de, aproximadamente, el 0,3%, mientras que en Cameta la frecuencia es mucho más elevada (2%).

Respecto al PGM1-IEF (Figura E.13.), se trata de un marcador de gran interés ya que discrimina muy bien entre las poblaciones negroide, caucasoide y mongoloide , con frecuencias para los distintos alelos muy diferentes (para una revisión ver Tartaglia y Rickards, 1993), por ello nos vamos a detener con más detalle en él. Las dos comunidades afro-americanas estudiadas por nosotros presentan frecuencias siempre en el ámbito de variación del conjunto, y además, aparecen con valores muy cercanos a la población africana. Por otra parte, comparando las dos comunidades entre sí, considerando los cuatro alelos, siempre la comunidad de Viche, respecto a la de Rio Cayapas, -dentro de la lejanía- tiende

a acercarse más a las frecuencias de los indios Cayapas, probablemente debido a un flujo de genes indígenas presentes en el grupo de ladinos que habitan en esta localidad.

Para dar una visión global de la contribución de los tres componentes africano, caucasoide y nativo americano a las comunidades de Viche y de Rio Cayapas y a todas las otras comunidades afro-americanas se ha elaborado la gráfica de la Figura E.17., en donde, en un sistema de coordenadas triangulares, se representan las frecuencias de los alelos PGM1*1A, PGM1*1B y PGM1*2 (suma de PGM1*2A y PGM1*2B). En dicho gráfico se evidencia cómo las comunidades indígenas (círculos blancos) quedan claramente separadas, por tener una elevada incidencia del alelo PGM1*1B y baja el PGM1*1A; por otro lado, las poblaciones de Africa (triángulos) se caracterizan por la frecuencia alta del alelo PGM1*1A y baja del PGM1*1B y PGM1*2. Respecto a las poblaciones caucasoides (cuadrados) no presentan frecuencias para estos alelos que las separen de las africanas, ya que alcanzan las máximas diferencias respecto a PGM1*2A. En general, las comunidades afro-americanas (círculos negros) y mixtas (estrellas) de Centro y Sudamérica se sitúan entre el grupo de las africanas y caucasoides y el conjunto de las poblaciones nativas americanas, por tener frecuencias intermedias para los distintos alelos. Se puede observar como la comunidad afro-americana de Viche presenta la frecuencia del alelo PGM1*1A más baja que la de rio Cayapas en detrimento del alelo PGM1*1B. Esto podría indicar que la comunidad de Rio Cayapas ha tenido menor aporte de componente indígena y de su alelo característico que es el PGM1*1B respecto de la de Viche.

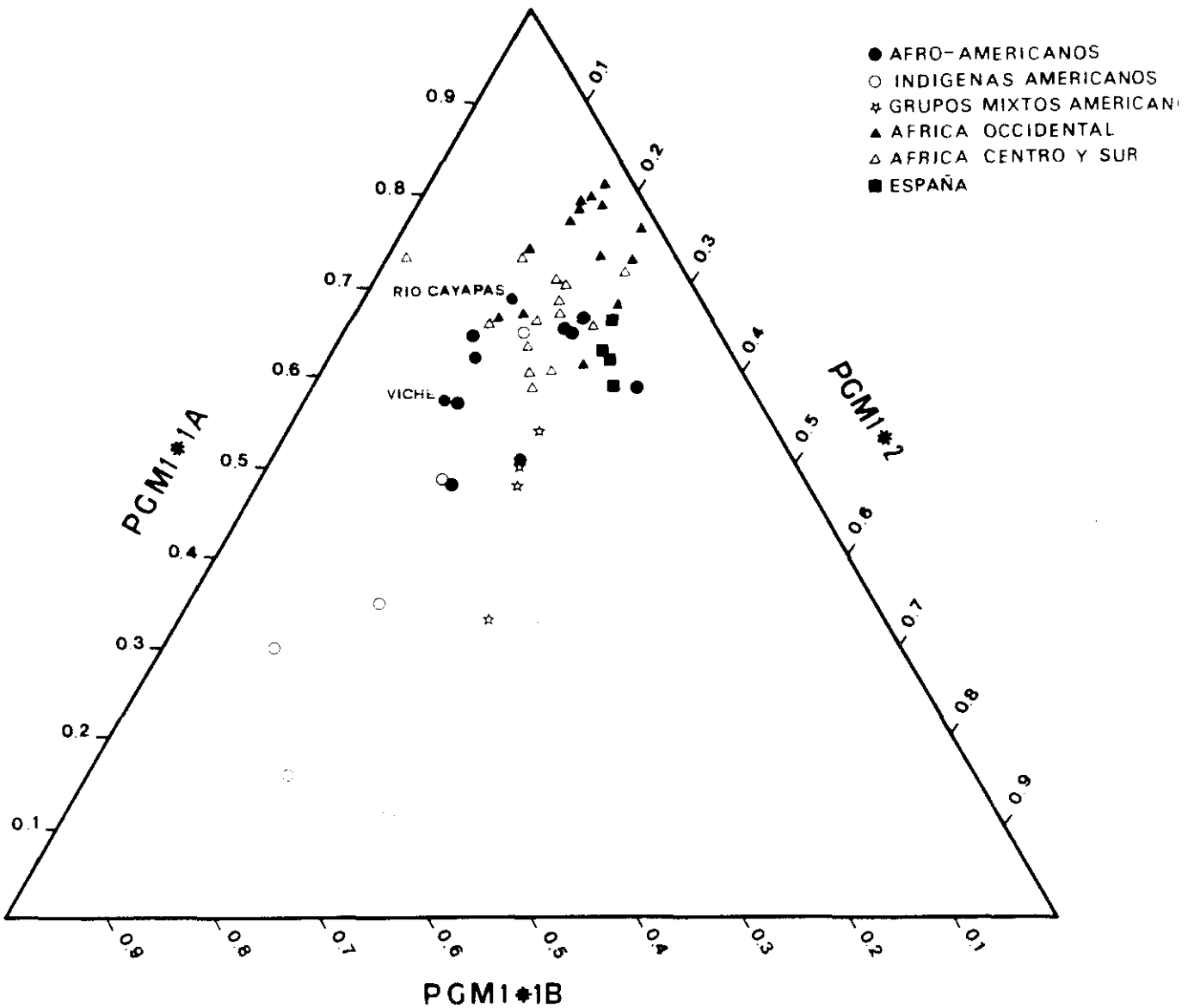


Figura E.17.- *Representación de las frecuencias de los alelos PGM1*1A, PGM1*1B y PGM1*2 (PGM1*2A + PGM1*2B).*

Esta tendencia de la comunidad de Viche a presentar frecuencias más cercanas a la muestra indígena de indios Cayapas en comparación con la otra comunidad analizada de Rio Cayapas, se observa en la mayor parte de los marcadores estudiados, como son la ESD*1, GLO*1, PGD*C.

A modo de resumen, podriamos indicar que la heterogeneidad de las frecuencias alélicas para estos marcadores en las distintas poblaciones consideradas puede ser debido a la distinta contribución de las poblaciones parentales al "pool" génico de las diferentes comunidades, junto a fenómenos microevolutivos, especialmente de deriva genética y/o efecto de fundadores, sin olvidar el posible error provocado por el reducido tamaño de alguna de las muestras.

E.1.3.3. CALCULO DE F_{st}:

Para cuantificar la heterogeneidad o diferenciación genética entre las distintas comunidades afro-americanas se ha procedido a hacer un cálculo de Fst entre las mismas.

Dicho valor se puede aplicar a un conjunto de poblaciones o para porciones regionales de las mismas, y valora el grado de heterogeneidad del total de poblaciones o de subdivisiones como una varianza estandarizada de las frecuencias génicas.

No se han incluido los sistemas G6PD y HBß, porque como ya ha sido indicado previamente, están condicionadas por la selección natural y se consideran para este cálculo solamente sistemas neutros o casi-neutros, en donde la deriva y las migraciones son las principales causas que provocan las diferencias entre las poblaciones respecto a las frecuencias génicas (Jorde, 1980).

Tabla E.17.- *Varianza de Wahlund o Fst*

ALELO	*K*	*P*	σ^2	*Fst*
ACP1*A	23	0,1723	1,43E-4	0,01876
ACP1*B	23	0,8145	3,36E-3	0,02227
ACP1*C	23	0,0067	1,43E-4	0,02150
ACP1*R	23	0,0065	8,38E-5	0,01294
ADA*1	11	0,9855	2,16E-4	0,01512
AK1*1	22	0,9895	8,53E-5	0,00821
CA2*1	6	0,9475	1,88E-3	0,03771
ESD*1	21	0,8858	5,38E-3	0,05316
GLO1*1	11	0,3516	4,40E-3	0,03771
PGD*A	25	0,9682	4,17E-4	0,01355
PGM1*1	24	0,7997	1,74E-3	0,01088
PGM1*1A	14	0,5573	7,60E-3	0,03082
PGM1*1B	14	0,2516	7,60E-3	0,04037
PGM1*2A	14	0,1522	2,46E-3	0,01905
PGM1*2B	14	0,0037	5,47E-4	0,01517
PGM2*1	12	0,9966	2,16E-5	0,00636
			Fst medio	**0,02157**

siendo K el número de poblaciones consideradas para cada alelo, P la frecuencia

media, σ^2 la varianza que tienen como fórmula

$$\sigma^2 = \frac{\sum p_i^2}{K} - P^2$$

y Fst o varianza de Wahlund calculada como:

$$F_{st} = \frac{\sigma^2}{PQ}$$

siendo P y Q las frecuencias medias.

En la Tabla 17, aparecen los alelos, el número de poblaciones consideradas, la frecuencia media de cada alelo, la varianza, la varianza de Wahlund o Fst y el valor medio de Fst.

El Fst medio obtenido (0,02157) se incluye en la primera clase que Wright (1978) describe de "poca diferencia genética" (ver tabla adjunta), como ocurre en la mayor parte de las poblaciones humanas.

Valor de Fst	
0,00 - 0,05	poca diferencia genética
0,05 - 0,15	diferencia genética moderada
0,15 - 0,25	diferencia genética grande
> 0,25	diferencia genética muy grande

Efectivamente, la mayor variabilidad, corresponde a la heterogeneidad existente entre los grandes grupos raciales, cuya variabilidad se corresponde con unos valores máximos de Fst de 0,38 (Cavalli-Sforza, 1969) y 0,135 (Wright, 1978). Esto confirma, una vez más, la conclusión de Lewontin (1972) y de Nei y Roychoudhury (1982) de que la proporción de variación genética entre las "razas

humanas" es pequeña.

La comparación con el valor de Fst encontrado por Cavalli-Sforza (1969) para los grandes grupos africanos, y que corresponde a 0,042, pone en evidencia que entre las comunidades afro-americanas existe una mayor homogeneidad genética respecto a las poblaciones africanas, ya que el valor obtenido en este estudio es la mitad (0,0216). Esto podría sugerirnos que los grupos africanos que han dado origen a las distintas comunidades afro-americanas, hace aproximadamente 600 años, provenían de una zona más restringida del continente africano, probablemente limitada a las poblaciones negríticas del oeste de Africa, en el cual no participan algunos de los grupos tomados en consideración por Cavalli-Sforza (1969) en su estudio, como son los pigmeos y bosquimanos. También, podría deducirse que, durante el periodo de tiempo comprendido desde su llegada a América hasta la actualidad la historia microevolutiva de estas poblaciones no ha determinado una diferencia genética como para alcanzar valores de Fst relativamente elevados, o bien que el fenómeno del mestizaje las ha homogenizado entre sí.

Además, la comparación con otros valores de Fst tabulados en una revisión de Jorde (1980) relativa a distintos grupos humanos, ponen en evidencia que el valor obtenido de 0,02157 es comparable al calculado para poblaciones subdividadas de indios Papago (0,0208), o para Fore en Nueva Guinea (0,0201) o para los pigmeos (0,02), todas ellas poblaciones "primitivas", con un número de subpoblaciones inferior a 20 (Jorde, 1980), pero que habitan un area delimitada, y no dispersas en un continente como es el caso de las comuniades afro-americanas consideradas en este estudio.

E.1.3.4. ANALISIS MULTIVARIADOS:

Para valorar estas relaciones genéticas de forma más completa, entre las distintas comunidades afro-americanas y con las poblaciones parentales se ha aplicado un análisis de las correspondencias así como un análisis de distancias genéticas.

E.1.3.4.1. 13 POBLACIONES Y 10 SISTEMAS (GLO1, G6PD, AK1, ESD, PGD, ACP1,PGM1, ABO, RH, HBß)

En un primer estudio y siempre con el propósito de utilizar el mayor número posible de alelos independientes que representaran al mayor número de poblaciones, se ha llegado a un número de 15 alelos independientes, analizados en 13 poblaciones -7 comunidades afro-americanas, 1 población parental africana, 1 parental española y 4 comunidades indígenas (que representan la componente parental india sólo para las comunidades negras de Brasil -Cameta, que son indios de Brasil, y Paredao, que son los indios Caingang-, Venezuela -Curiepe, que son los indios Carib- y Ecuador, los indios Cayapas; dado que para las otras comunidades negras incluidas en el análisis no existían datos de indios parentales, y que no se puede hacer una media ponderada ya que existe una grado de heterogeneidad muy alto entre los distintos grupos nativos americanos-. En la tabla E.21. están las frecuencias alélicas que se han utilizado para este análisis. Se han incluido, también, los sistemas de grupo sanguineo ABO y RH, analizados previamente para las comunidades afro-americanas objeto de este estudio (De Stefano, comunicación personal).

Tabla E.21.- *Poblaciones y frecuencias alélicas utilizados en los análisis de correpondencias.*

	*GLO1*1*	*GD*A*	*GD*A-*	*GD*B-*	*AK1*1*	*ESD*1*	*PGD*A*	*ACP1*A*	*ACP1*C*	*ACP1*R*	*PGM1*1*	*ABO*A*	*ABO*B*	*RH*d*	*HBß*C*	*HBß*S*
RIO CAYAPAS	0.444	0.145	0.089	0.000	1.000	0.954	0.953	0.112	0.000	0.000	0.860	0.090	0.059	0.275	0.136	0.049
VICHE	0.296	0.103	0.138	0.000	0.973	0.885	0.990	0.209	0.000	0.000	0.868	0.083	0.109	0.131	0.014	0.047
PAREDAO	0.389	0.235	0.118	0.000	1.000	0.722	0.986	0.028	0.000	0.000	0.758	0.178	0.330	0.471	0.036	0.000
CAMETA	0.317	0.053	0.079	0.000	1.000	0.839	0.989	0.102	0.000	0.000	0.850	0.113	0.138	0.146	0.000	0.005
CURIEPE	0.406	0.220	0.000	0.000	0.995	0.895	0.995	0.245	0.005	0.000	0.855	0.094	0.080	0.226	0.011	0.027
BLUEFIELDS	0.393	0.069	0.122	0.000	1.000	0.913	0.936	0.178	0.000	0.003	0.798	0.101	0.086	0.188	0.009	0.052
ESTADOS UNIDOS	0.319	0.177	0.133	0.000	0.991	0.912	0.959	0.219	0.011	0.008	0.803	0.165	0.131	0.256	0.009	0.041
TRINIDAD	0.302	-----	-----	-----	0.984	0.757	0.991	0.109	0.000	0.005	0.707	0.169	0.175	0.166	-----	-----
AFRICA	0.316	0.226	0.136	0.000	0.999	0.936	0.963	0.177	0.001	0.020	0.820	0.160	0.158	0.233	0.054	0.087
ESPAÑA	0.482	0.000	0.000	0.003	0.959	0.877	0.978	0.283	0.045	0.000	0.737	0.287	0.067	0.409	0.000	0.000
IND. CAYAPAS	0.311	0.000	0.000	0.000	1.000	0.747	0.997	0.220	0.000	0.000	0.692	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000
IND. PAREDAO	0.308	0.000	0.000	0.000	1.000	0.682	1.000	0.114	0.000	0.000	0.931	0.000	0.000	0.034	0.000	0.000
IND. CAMETA	0.308	0.000	0.000	0.000	1.000	0.724	0.998	0.114	0.000	0.000	0.772	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000
IND. CURIEPE	0.308	0.000	0.000	0.000	1.000	0.724	1.000	0.114	0.000	0.000	0.772	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Nota: Los datos para los sistemas de grupo sanguineo ABO y RH se han tomado de las referencias bibliográficas indicadas para los polimorfismos enzimáticos. En el caso de Africa se han considerado, también, Mourant *et al.*, 1976; Tills *et al.*, 1983 y Roychoudhury y Nei, 1988; y para España se han tomado las frecuencias de Colino, 1978.

Tabla E.22.- *Contribuciones relativas de los tres ejes de las poblaciones y de los alelos.*

	X	Y	Z
RIO CAYAPAS	0.128676	0.165038	0.344885
VICHE	0.005297	0.279061	0.000000
PAREDAO	0.717833	0.000146	0.214698
CAMETA	0.015673	0.000002	0.646485
CURIEPE	0.020323	0.009469	0.015678
BLUEFIELDS	0.015291	0.052707	0.027190
U.S.A.	0.600196	0.000641	0.001964
AFRICA	0.530956	0.199728	0.073881
ESPAÑA	0.032372	0.924320	0.035984
IND.CAYAPAS	0.918367	0.000286	0.000113
IND.PAREDAO	0.899143	0.004173	0.020147
IND.CAMETA	0.955875	0.003932	0.013500
IND.CURIEPE	0.957759	0.006511	0.012785

	X	Y	Z
GLO1*1	0.044326	0.336473	0.077059
GD*A	0.654631	0.150905	0.000021
GD*A-	0.461360	0.217684	0.000745
GD*B-	0.011557	0.860677	0.064102
AK1*1	0.862370	0.020498	0.067655
ESD*1	0.298449	0.037440	0.354276
PGD*A	0.868130	0.002232	0.086044
ACP1*A	0.082873	0.216757	0.225910
ACP1*C	0.029070	0.864827	0.075281
ACP1*R	0.145800	0.089190	0.071338
PGM1*1	0.667951	0.092057	0.024469
ABO*A	0.598146	0.342362	0.009436
ABO*B	0.727861	0.008467	0.249621
RH*d	0.803409	0.147177	0.000009
HBß*C	0.197659	0.195275	0.291663
HBß*S	0.204158	0.260385	0.306618

Tabla E.23.- *Contribuciones absolutas de los tres ejes para las poblaciones y los alelos.*

	X	Y	Z
RIO CAYAPAS	0.024689	0.082592	0.330198
VICHE	0.000237	0.032502	0.000000
PAREDAO	0.263397	0.000139	0.393103
CAMETA	0.000548	0.000000	0.112870
CURIEPE	0.001416	0.001721	0.005451
BLUEFIELDS	0.000479	0.004309	0.004253
U.S.A	0.040990	0.000114	0.000669
AFRICA	0.085708	0.084091	0.059510
ESPAÑA	0.010589	0.788617	0.058735
IND.CAYAPAS	0.146397	0.000119	0.000090
IND.PAREDAO	0.138025	0.001671	0.015433
IND.CAMETA	0.139133	0.001493	0.009805
IND.CURIEPE	0.148391	0.002631	0.009885

	X	Y	Z
GLO1*1	0.000969	0.019182	0.008404
GD*A	0.166209	0.099933	0.000026
GD*A-	0.079831	0.098243	0.000643
GD*B-	0.000101	0.019667	0.002802
AK1*1	0.042773	0.002652	0.016744
ESD*1	0.004872	0.001594	0.028859
PGD*A	0.049403	0.000331	0.024433
ACP1*A	0.007740	0.052801	0.105281
ACP1*C	0.002765	0.214555	0.035731
ACP1*R	0.005710	0.009111	0.013942
PGM1*1	0.031246	0.011232	0.005712
ABO*A	0.118921	0.177535	0.009361
ABO*B	0.179762	0.005454	0.307626
RH*d	0.250236	0.119564	0.000014
HBß*C	0.039551	0.101914	0.291214
HBß*S	0.019910	0.066232	0.149209

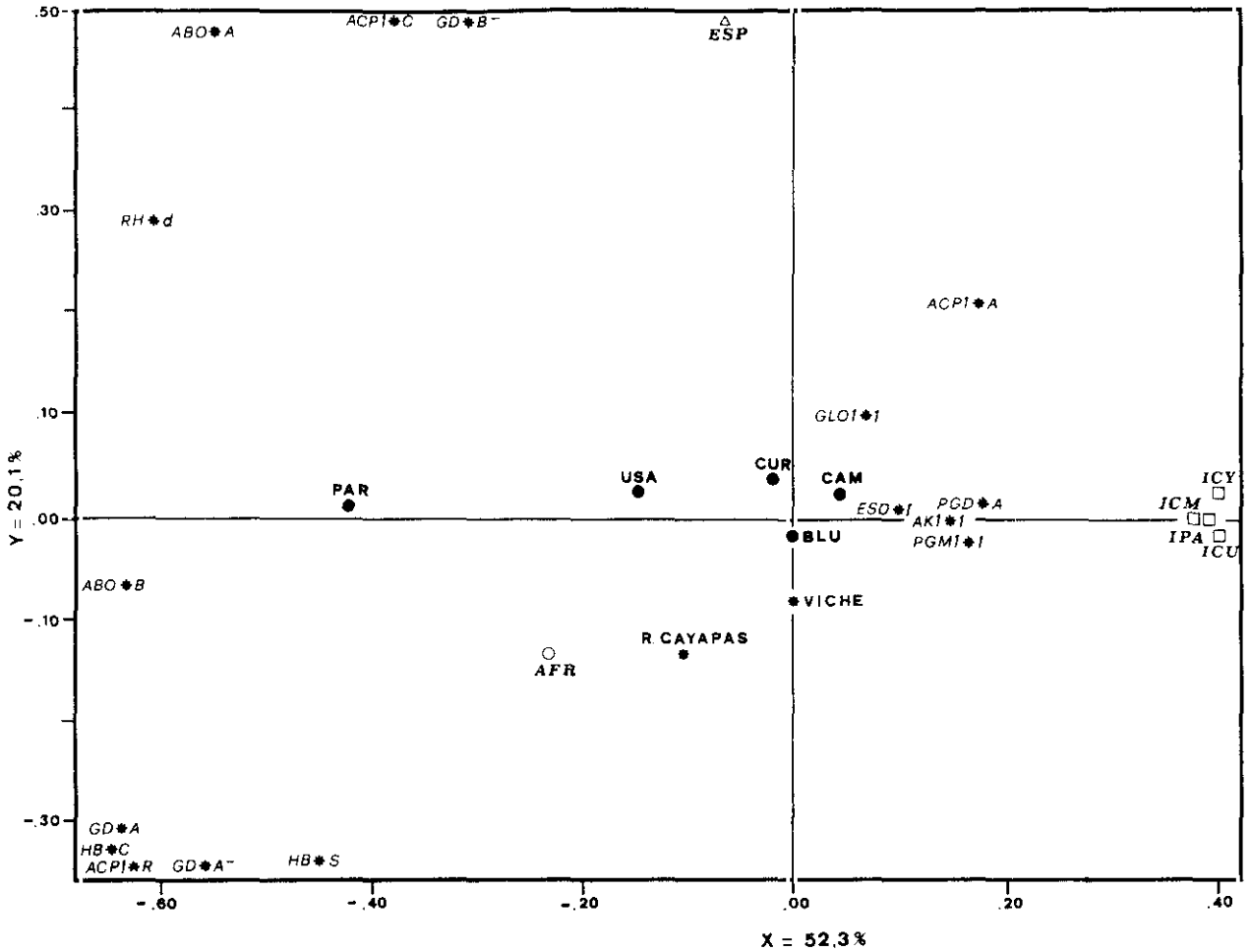


Fig. E.18.-

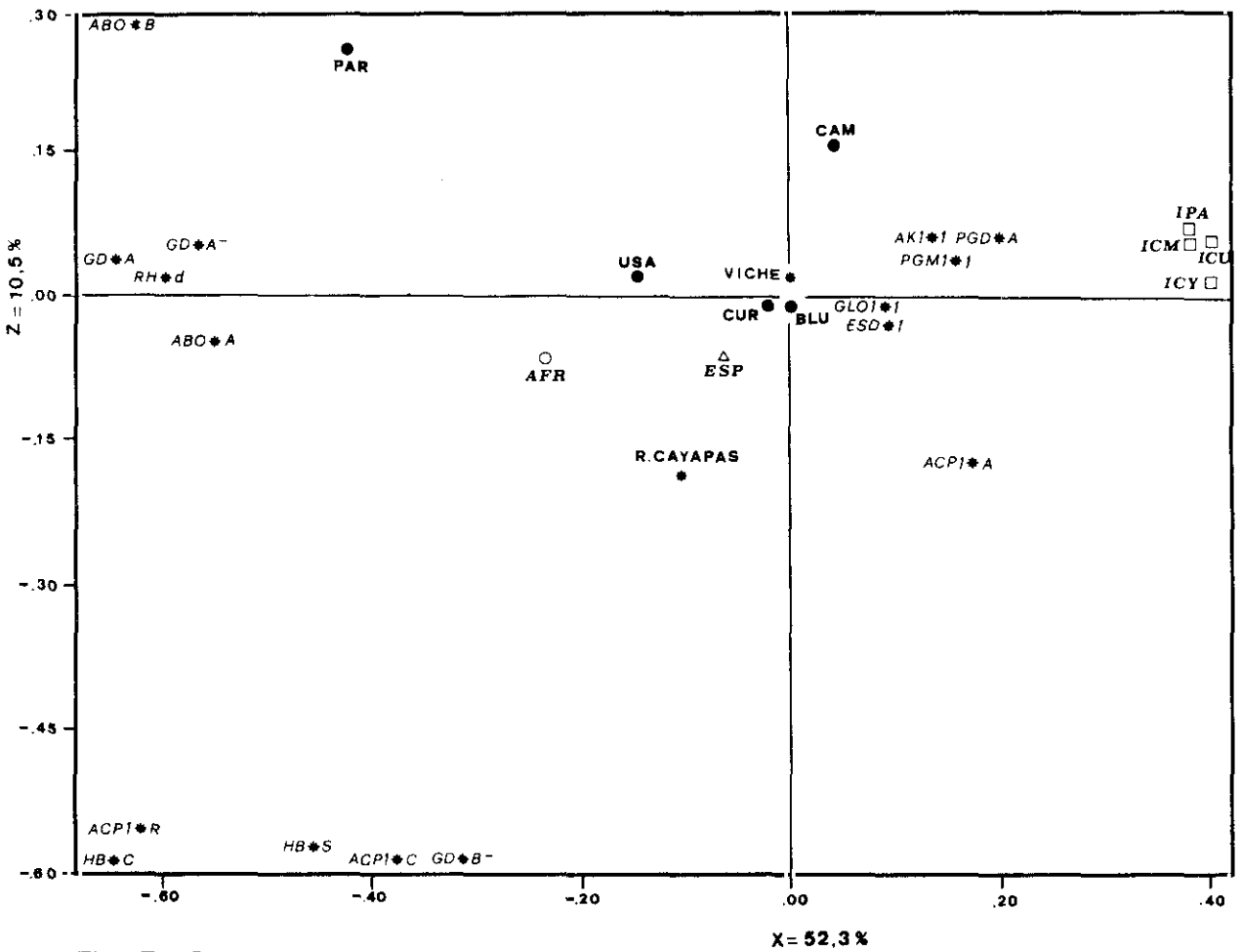


Fig. E.19.-

En las tablas E.22. y E.23. aparecen, respectivamente, las contribuciones relativas y absolutas para los marcadores y poblaciones relativos correspondientes a los tres primeros ejes, y en las Figuras E.18. y E.19. aparecen las representaciones gráficas bidimiensionales respecto al primer y segundo eje, y al primer y tercer eje.

La representación de los dos primeros ejes (Fig. E.18.) explica el 72,3% de la variabibilidad total. La figura pone en evidencia la presencia de un cluster de poblaciones indígenas americanas que resultan estrechamente relacionadas entre ellas y muy homogéneas geneticamente. Además, otro cluster agrupa todas las comunidades afro-americanas, que son más heterogéneas que las primeras, en el cual aparece muy cercana la población parental africana. Completamente aislada, aparece la población española, indicando su diversidad genética respecto de las otras poblaciones. En el interior del cluster de las comunidades afro-americanas se puede observar como la comunidad de Paredao resulta la más diversa geneticamente respecto a las otras, si bien hay que tener en cuenta que el tamaño de la muestra es muy bajo (N=34); la comunidad de Rio Cayapas, que está bastante bien representada (ver tabla 19) en este análisis respecto a las otras comunidades afro-americanas, se localiza más cercana a Africa respecto de Viche que, a su vez, está más cercana a las otras comunidades.

Los alelos que mejor contribuyen a la representación gráfica son RH*d, G6PD*A, G6PD*A-, ABO*A, ABO*B, ACP1*C y la HB*C que explican la contribución más alta de la varianza (tablas E.22. y E.23.).

La representación del primer y tercer eje (Figura E.19.), que explica el 63% de la variabilidad total, no altera el patrón general, los indios se vuelven a agrupar,

aunque aparece un redistribución de las comunidades afro-americanas, que en el tercer eje están mejor representadas (tabla E.22.). Pone en evidencia una mayor distancia de la comunidad negra de Rio Cayapas y Paredao respecto a las otras, y una cierta semejanza genética entre las de Viche, Bluefields y Curiepe, que están muy bien representadas en este gráfico. La posición espacial de las comunidades de Rio Cayapas y de Paredao es debida al alelo HB*C y ABO*B, respectivamente. La peculiaridad de la elevada frecuencia de la HBß*C ya había sido puesto en evidencia anteriormente, al estudiar la distribución de las frecuencias para este alelo en las distintas comunidades (ver Figura E.16.).

Los alelos HB*C, HB*S, RH*d, ACP1*A y ABO*A son los que más contribuyen a la distribución de las poblaciones en este plano (tabla E.23.).

El análisis de distancias genéticas ha puesto en evidencia resultados comparables con los obtenidos por este primer análisis. En las Tablas E.24. y E.25. aparecen las matrices de distancias genéticas según los métodos de Nei (1972), Prevosti (Wright, 1978), Cavalli-Sforza y Edwards (1967) y Edwards (1971, 1974). La construcción de los dendrogramas aplicando el algoritmo UPGMA a las matrices de distancias genéticas ha puesto en evidencia una topología muy similar y en todos los casos la correspondencia entre la matriz de distancias y el dendrograma ha resultado óptima, al salir valores de R cofenético muy altos. Por tanto, se ha elegido representar un único dendrograma, el que presentaba el valor de F cofenétco más elevado, que en este caso correspondía a la matriz de distancias de Edwards (Figura E.20.).

Tabla E.24.- *Matriz de distancias genéticas.*
Debajo de la diagonal: Distancia de Prevosti (Wright, 1978)
Encima de la diagonal: Distancia genética de Nei (1972).

	POBLACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	RIO CAYAPAS	****	.010	.010	.034	.012	.007	.006	.008	.026	.032	.028	.028	.029
2	VICHE	.075	****	.004	.039	.004	.006	.003	.006	.030	.017	.015	.015	.015
3	U.S.A.	.074	.051	****	.025	.008	.005	.005	.002	.021	.029	.028	.030	.029
4	PAREDAO	.132	.141	.108	****	.030	.034	.035	.026	.038	.072	.064	.064	.065
5	CAMETA	.082	.046	.068	.120	****	.009	.004	.010	.025	.015	.011	.011	.011
6	CURIEPE	.058	.050	.051	.125	.068	****	.005	.007	.019	.022	.021	.021	.022
7	BLUEFIELDS	.057	.044	.048	.126	.056	.047	****	.007	.020	.017	.015	.018	.016
8	AFRICA	.070	.063	.030	.110	.077	.067	.059	****	.030	.035	.033	.035	.034
9	ESPAÑA	.128	.125	.105	.133	.117	.096	.108	.132	****	.041	.043	.046	.044
10	IND.CAYAPAS	.150	.099	.126	.173	.091	.111	.108	.144	.128	****	.002	.008	.002
11	IND.CAMETA	.133	.101	.130	.155	.074	.115	.104	.142	.139	.024	****	.003	.000
12	IND.PAREDAO	.134	.100	.142	.173	.077	.117	.117	.151	.157	.046	.022	****	.003
13	IND.CURIEPE	.135	.102	.132	.157	.076	.117	.106	.144	.141	.022	.002	.023	****

Tabla E.25.- *Matriz de distancias genéticas.*
Debajo de la diagonal: Distancia "E" de Edwards (1971,1974)
Encima de la diagonal: Arco distancia de Cavalli-Sforza & Edwards (1967).

	POBLACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	RIO CAYAPAS	****	.094	.091	.142	.113	.109	.076	.073	.174	.211	.198	.199	.213
2	VICHE	.103	****	.065	.149	.069	.100	.061	.076	.160	.172	.168	.168	.178
3	U.S.A.	.101	.070	****	.125	.088	.098	.059	.045	.148	.209	.205	.208	.218
4	PAREDAO	.155	.163	.140	****	.127	.156	.143	.127	.188	.260	.247	.248	.262
5	CAMETA	.127	.080	.100	.138	****	.106	.068	.106	.142	.155	.145	.146	.158
6	CURIEPE	.123	.112	.109	.173	.122	****	.104	.109	.141	.180	.174	.173	.187
7	BLUEFIELDS	.084	.067	.066	.158	.077	.118	****	.070	.146	.174	.168	.174	.182
8	AFRICA	.080	.084	.051	.142	.121	.121	.077	****	.178	.225	.220	.223	.232
9	ESPANA	.201	.181	.171	.217	.160	.163	.168	.205	****	.203	.196	.201	.214
10	IND.CAYAPAS	.240	.199	.238	.290	.178	.208	.200	.256	.222	****	.046	.084	.040
11	IND.CAMETA	.228	.196	.235	.276	.168	.202	.195	.253	.216	.054	****	.050	.028
12	IND.PAREDAO	.229	.197	.239	.276	.169	.202	.202	.256	.221	.091	.052	****	.061
13	IND.CURIEPE	.243	.207	.249	.292	.181	.217	.210	.265	.235	.046	.032	.065	****

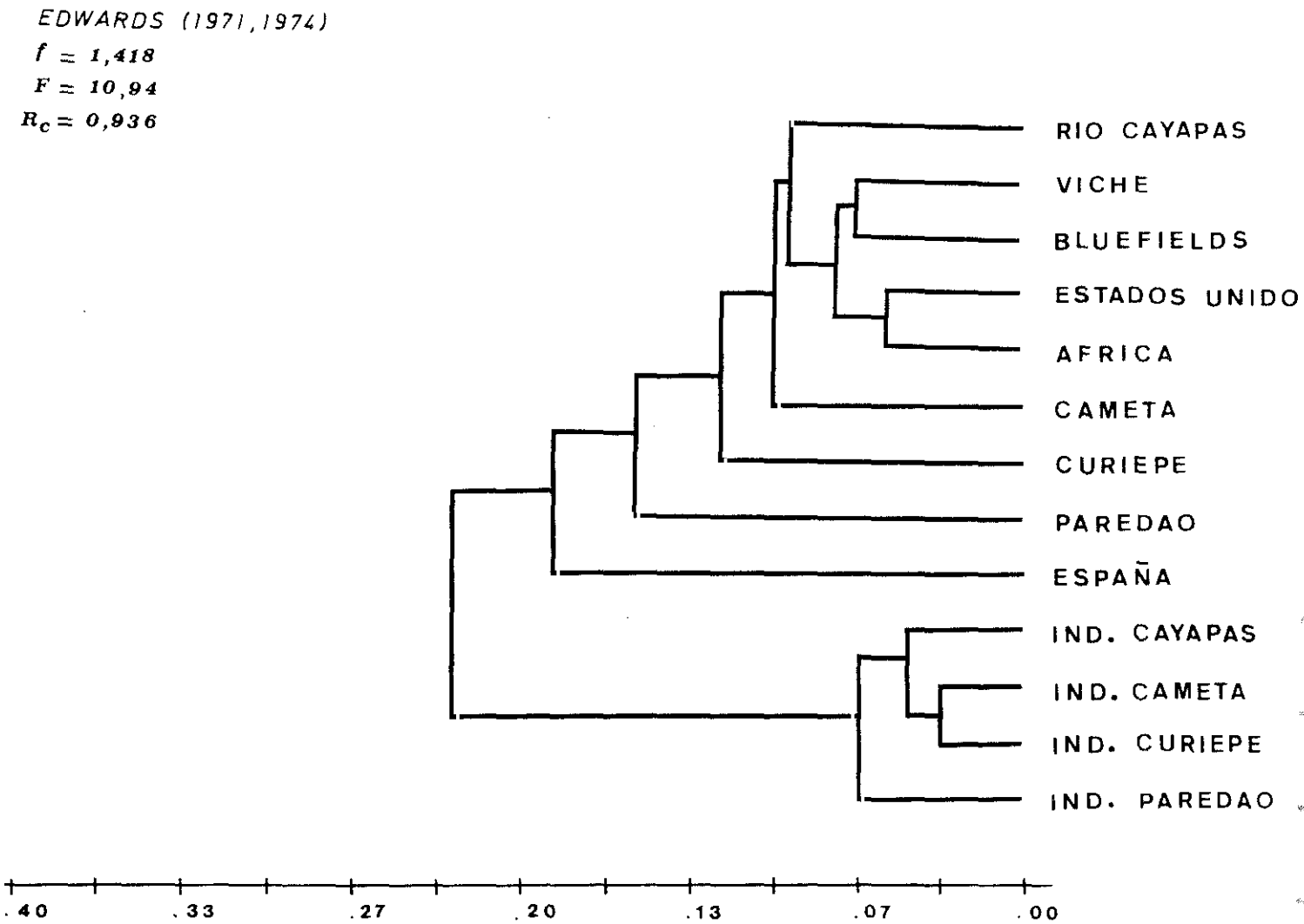


Fig. E.20.- *Dendrograma obtenido aplicando el algoritmo UPGMA a la matriz de distancias de Edwards.*

En este dendrograma existen dos cluster distintos, uno netamente diferenciado de los otros que agrupa las poblaciones nativas de América y el otro con las comunidades afro-americanas y con la población africana que se posiciona en el centro del grupo. La comunidad de Paredao se sitúa distante del resto de las comunidades negras, como ya se había constatado en el análisis de correspondencias. En último lugar se une España que resulta más distante respecto de las poblaciones negras.

E.1.3.4.2. 14 POBLACIONES Y 8 SISTEMAS (GLO1, AK1, ESD, PGD, ACP1, PGM1, ABO, RH)

Dado que en el análisis que hemos analizado estaban presentes dos sistemas con fuerte poder selectivo, que son la G6PD y la hemoglobina, hemos decidido llevar a cabo este análisis excluyendo ambos marcadores, para evitar que la semejanza de las poblaciones fuese debida a un factor ambiental y selectivo, más que a un origen e historia común. Así, hemos podido aumentar el set de datos con una población más, la comunidad de Trinidad (Tabla E.21. de datos del análisis anterior). En la Figura E.21. aparece la representación bidimensional sobre el primer y segundo ejes, del análisis de correspondencias aplicado sobre un total de 14 poblaciones y 11 alelos independientes, que explican el 84,6% de la variabilidad total.

Tabla E. **26**.- *Contribuciones relativas de los tres ejes para las poblaciones y los alelos.*

	X	Y	Z
RIO CAYAPAS	0.015577	0.000439	0.476510
VICHE	0.249279	0.019043	0.237119
PAREDAO	0.725939	0.224821	0.036011
CAMETA	0.001237	0.649777	0.004909
CURIEPE	0.000232	0.396604	0.008120
TRINIDAD	0.318158	0.275179	0.143603
BLUEFIELDS	0.015420	0.031274	0.006754
U.S.A.	0.596944	0.128483	0.226822
AFRICA	0.314001	0.029190	0.455628
ESPAÑA	0.411157	0.556549	0.011890
IND. CAYAPAS	0.878300	0.023832	0.014322
IND. PAREDAO	0.873450	0.010266	0.042290
IND. CAMETA	0.951871	0.005179	0.019571
IND. CURIEPE	0.956471	0.005597	0.011349

	X	Y	Z
GLO1*1	0.014545	0.227223	0.559627
AK1*1	0.772331	0.107134	0.002293
ESD*1	0.144877	0.056611	0.166951
PGD*A	0.728439	0.067835	0.002971
ACP1*A	0.031452	0.671795	0.160582
ACP1*C	0.184219	0.697664	0.013187
ACP1*R	0.059147	0.006593	0.557388
PGM1*1	0.633050	0.078782	0.020408
ABO*A	0.845512	0.073195	0.029971
ABO*B	0.655113	0.301931	0.022127
RH*d	0.931867	0.005046	0.039543

Tabla E.**27**.- *Contribuciones absolutas de los tres ejes para las poblaciones y los alelos.*

	X	Y	Z
RIO CAYAPAS	0.000632	0.000055	0.185552
VICHE	0.005364	0.001258	0.048985
PAREDAO	0.285437	0.271426	0.135926
CAMETA	0.000027	0.043194	0.001020
CURIEPE	0.000005	0.025229	0.001615
TRINIDAD	0.017767	0.047184	0.076982
BLUEFIELDS	0.000121	0.000752	0.000508
U.S.A.	0.024002	0.015862	0.087550
AFRICA	0.022117	0.006313	0.308083
ESPAÑA	0.136930	0.569113	0.038014
IND. CAYAPAS	0.129628	0.010800	0.020291
IND. PAREDAO	0.120269	0.004340	0.055899
IND. CAMETA	0.122706	0.002050	0.024218
IND. CURIEPE	0.134996	0.002425	0.015376

	X	Y	Z
GLO1*1	0.000373	0.017905	0.137869
AK1*1	0.031816	0.013551	0.000907
ESD*1	0.003502	0.004201	0.038737
PGD*A	0.034293	0.009805	0.001343
ACP1*A	0.003985	0.261375	0.195332
ACP1*C	0.024350	0.283151	0.016733
ACP1*R	0.003105	0.001063	0.280849
PGM1*1	0.031539	0.012052	0.009760
ABO*A	0.229300	0.060950	0.078025
ABO*B	0.232638	0.329213	0.075429
RH*d	0.405098	0.006735	0.165016

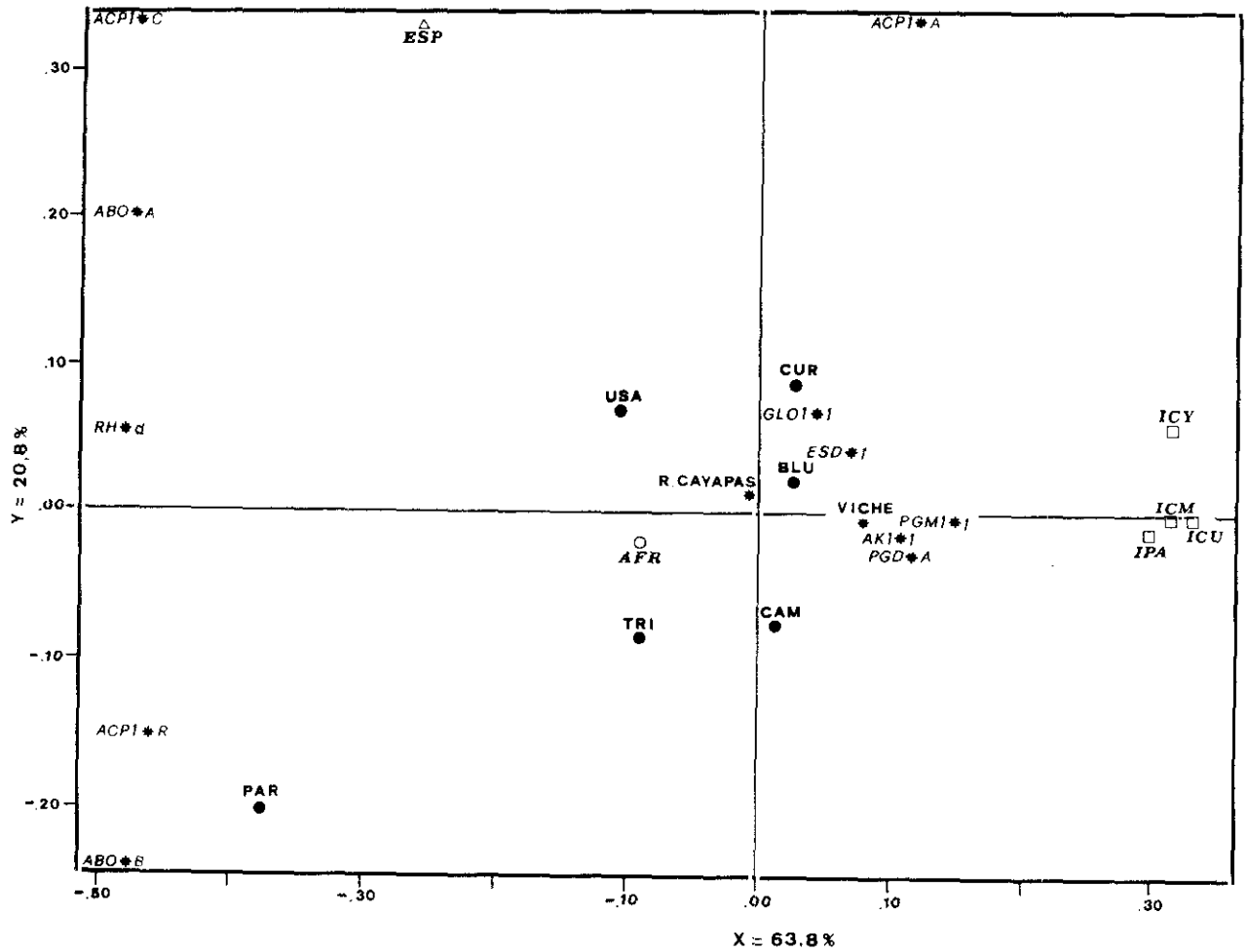


Fig. E.21.-

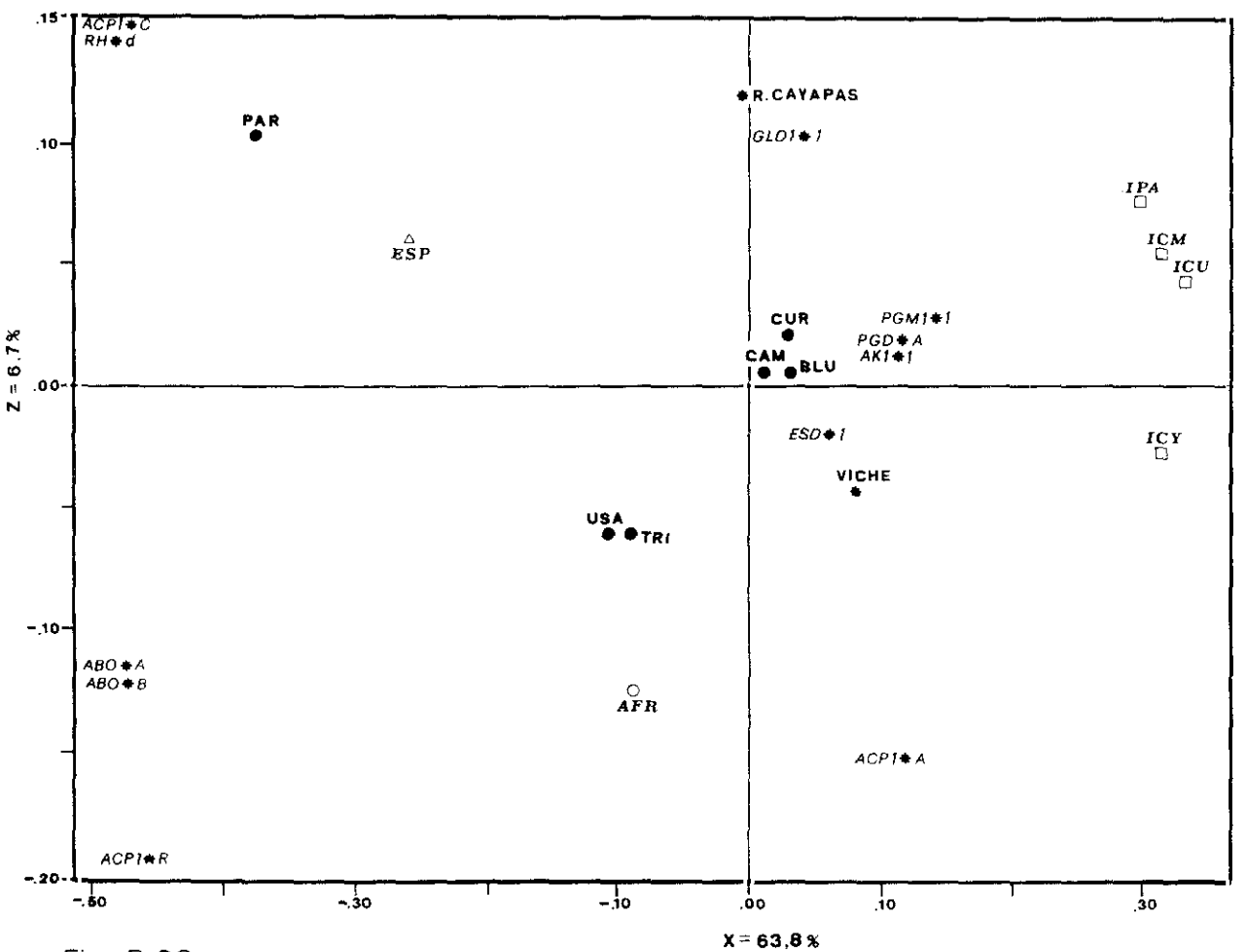


Fig. E.22.-

Se observa que el resultado es el mismo que el observado en el análisis anterior. Aparece un cluster muy homogéneo con las cuatro poblaciones indígenas americanas, otro cluster algo más heterogeneo con todas las comunidades afro-americanas que incluye algo más distante a Africa, y, por último, aisladas a la comunidad afro-americana de Paredao y a la población española. Los alelos RH*d, ABO*A, ABO*B, ACP1*C y ACP1*A son los que más contribuyen a la topología obtenida en esta representación (ver tablas E..26. y E.27. donde aparecen las contribuciones relativas y absolutas para poblaciones y alelos de los tres primeros ejes).

En la Figura E.22. aparece la representación respecto al primer y tercer ejes, que explica el 70,4 % de la variabilidad total. Se mantienen los grupos expuestos previamente, si bien, dentro de las comunidades afro-americanas existe una cierta reordenación, pasando a estar muy representadas las comunidades de Rio Cayapas y de Paredao, que son las que resultan más distantes respecto a las otras, como ya había sido puesto en evidencia en el análisis anterior (Ver Figura E.18 y E.19.). En este caso, los alelos RH*d, ABO*A, ABO*B, ACP1*A, ACP1*R y ACP1*C son los que más contribuyen a esta dispersión de las comunidades afro-americanas.

También en este caso, el análisis de distancias genéticas muestra las mismas relaciones genéticas puestas en evidencia en el análisis de correspondencias. En las tablas E.28 y E.29 aparecen las matrices de distancias genéticas según Nei, Prevosti, Cavalli-Sforza y Edwards y Edwards.

Tabla E.28.- *Matriz de distancias genéticas:*
Debajo de la diagonal: Distancia de Prevosti (Wright, 1978)
Encima de la diagonal: Distancia genética de Nei (1972).

POBLACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.- CAYAPAS	****	.010	.008	.036	.009	.004	.003	.020	.007	.018	.031	.026	.027	.027
2.- VICHE	.072	****	.005	.047	.003	.004	.004	.011	.005	.028	.015	.013	.013	.014
3.- U.S.A.	.067	.053	****	.031	.006	.004	.004	.010	.001	.013	.027	.027	.029	.028
4.- PAREDAO	.133	.154	.122	****	.032	.040	.040	.024	.030	.031	.078	.068	.069	.070
5.- CAMETA	.066	.037	.058	.118	****	.008	.004	.005	.005	.029	.018	.013	.013	.013
6.- CURIEPE	.043	.042	.045	.136	.060	****	.003	.017	.005	.014	.022	.021	.021	.022
7.- BLUEFIELDS	.046	.048	.043	.130	.055	.036	****	.011	.004	.019	.018	.016	.020	.017
8.- TRINIDAD	.107	.074	.071	.094	.048	.099	.082	****	.010	.028	.019	.017	.023	.017
9.- AFRICA	.061	.053	.019	.122	.050	.054	.042	.066	****	.016	.029	.027	.029	.028
10.- ESPANA	.108	.119	.086	.118	.129	.088	.103	.119	.103	****	.054	.056	.060	.058
11.- IND. CAYAPAS	.135	.086	.112	.168	.097	.107	.103	.084	.117	.159	****	.003	.011	.003
12.- IND. CAMETA	.114	.088	.117	.145	.075	.112	.098	.078	.115	.173	.030	****	.004	.000
13.- IND. PAREDAO	.115	.087	.133	.167	.079	.114	.115	.101	.126	.196	.057	.027	****	.004
14.- IND. CURIEPE	.116	.090	.120	.147	.078	.114	.101	.081	.117	.176	.028	.002	.029	****

Tabla E.29.- *Matriz de distancias genéticas:*
Debajo de la diagonal: Distancia "E" de Edwards (1971,1974),
Encima de la diagonal: Arco distancia de Cavalli-Sforza & Edwards (1967).

POBLACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.- RIO CAYAPAS	****	.085	.076	.141	.077	.076	.047	.114	.067	.120	.179	.161	.162	.182
2.- VICHE	.093	****	.068	.153	.056	.064	.066	.080	.068	.125	.143	.137	.137	.152
3.- U.S.A.	.085	.073	****	.129	.074	.069	.054	.079	.030	.083	.185	.179	.184	.197
4.- PAREDAO	.153	.166	.144	****	.118	.149	.140	.104	.124	.148	.249	.232	.233	.252
5.- CAMETA	.083	.064	.083	.123	****	.077	.061	.061	.064	.134	.152	.138	.139	.154
6.- CURIEPE	.085	.068	.074	.163	.085	****	.069	.101	.074	.103	.163	.154	.153	.172
7.- BLUEFIELDS	.052	.072	.058	.152	.068	.075	****	.088	.044	.114	.156	.148	.157	.167
8.- TRINIDAD	.124	.087	.088	.110	.066	.110	.097	****	.080	.122	.167	.160	.171	.175
9.- AFRICA	.073	.075	.034	.138	.073	.081	.047	.090	****	.105	.186	.179	.183	.196
10.- ESPANA	.133	.131	.088	.166	.145	.108	.124	.132	.113	****	.227	.219	.224	.239
11.- IND. CAYAPAS	.198	.159	.204	.271	.169	.180	.173	.186	.205	.248	****	.052	.094	.044
12.- IND. CAMETA	.179	.155	.200	.252	.155	.172	.166	.179	.199	.241	.060	****	.056	.031
13.- IND. PAREDAO	.181	.156	.205	.252	.157	.171	.176	.189	.205	.247	.102	.058	****	.068
14.- IND. CURIEPE	.203	.172	.220	.274	.173	.192	.188	.195	.219	.263	.052	.036	.073	****

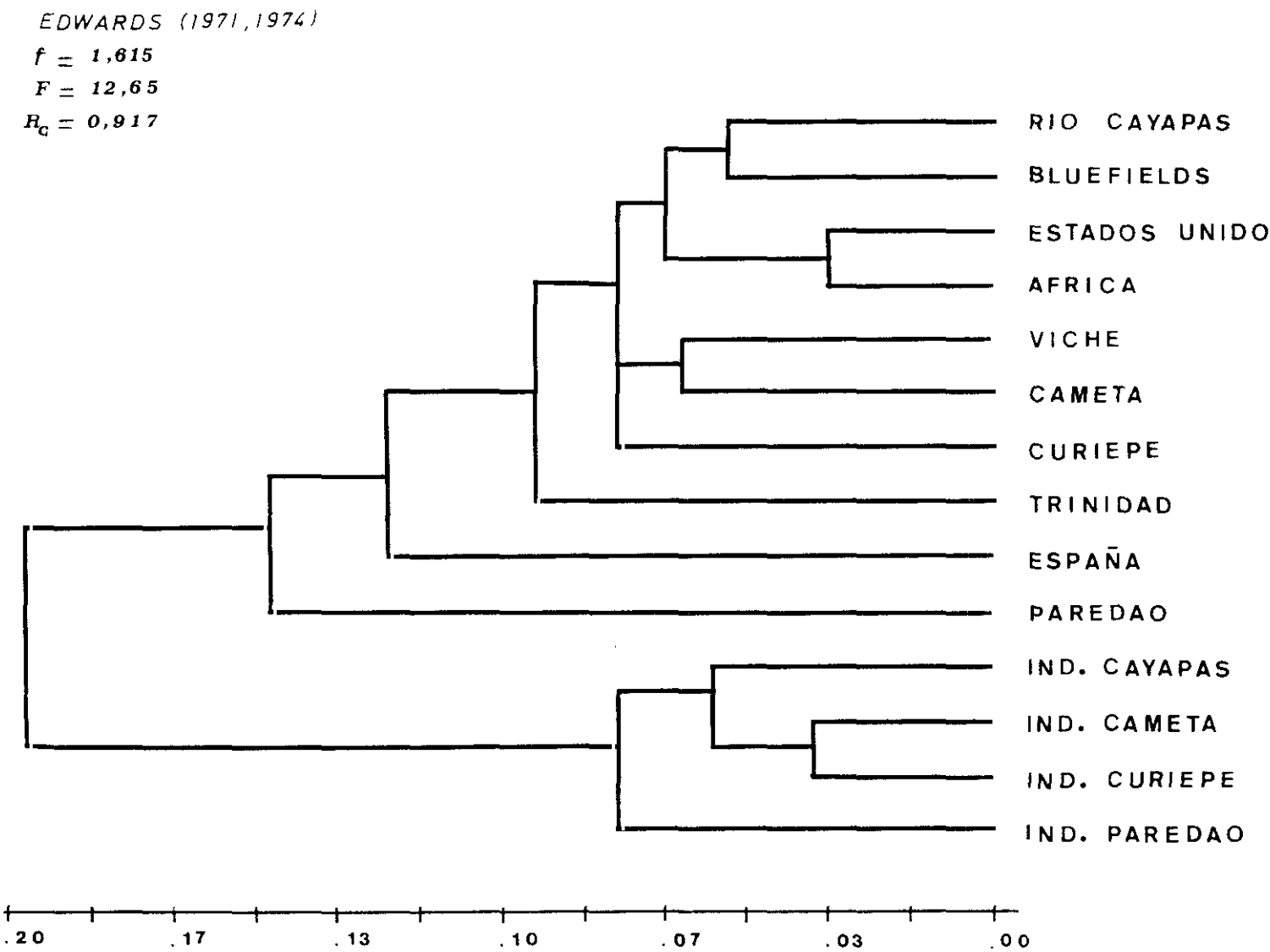


Fig. E.23- *Dendrograma obtenido aplicando el algoritmo UPGMA a la matriz de distancias de Edwards.*

Las representaciones son bastante fiables, pues presentan un valor de correlación cofenética que oscila entre 0,78 para la distancia de Nei hasta 0,92 para la distancia de Edwards. Como en el caso precedente, se ha elegido representar el dendrograma que presentaba el valor de R cofenético más elevado, dado que las distintas representaciones presentaban la misma topología. En la Figura E.23. aparece el dendrograma según la distancia de Edwards, si bien, en todos los modelos, como en los análisis de distancias efectuados previamente, se separan netamente dos cluster, uno que contiene todas las poblaciones de indígenas y el otro con todas las comunidades afro-americanas y Africa. La posición de la población española y la comunidad afro-americana de Paredao varía según el método de distancias utilizado, si bien, en todas las representaciones resulta distinta respecto del cluster que contiene las poblaciones negras.

E.1.3.4.3. 13 POBLACIONES Y 8 SISTEMAS (AK1, ESD, PGD, ACP1, PGM1-IEF, ABO, RH, HBß)

En los análisis anteriores hay una ausencia de de poblaciones afro-ameriacnas correspondientes a los "Black Caribs" de Centro América y para poder ser considerados en las comparaciones se ha hecho necesario eliminar dos marcadores que son la G6PD y la GLO1. En cambio, se ha podido añadir la PGM1-IEF, que a su vez, ha obligado a la exclusión de las poblaciones de indios de Brasil, resultando, finalmente, 13 poblaciones y 14 alelos independientes. En la Tabla E.30. aparecen las frecuencias alélicas para los diferentes grupos.

Tabla E.30.- *Poblaciones y frecuencias alélicas utilizadas en el análisis de correspondencias.*

	*AK1*1*	*ESD*1*	*PGD*A*	*ACP1*A*	*ACP1*C*	*ACP1*B*	*PGM1 *1B*	*PGM1 *2A*	*PGM1 *2B*	*ABO*A*	*ABO*B*	*RH*d*	*HBß*C*	*HBß*S*
RIO CAYAPAS	1.000	0.954	0.953	0.112	0.000	0.000	0.167	0.109	0.032	0.090	0.059	0.275	0.136	0.049
VICHE	0.973	0.885	0.990	0.209	0.000	0.000	0.289	0.083	0.051	0.083	0.109	0.131	0.014	0.047
PAREDAO	1.000	0.722	0.986	0.028	0.000	0.000	0.258	0.197	0.045	0.178	0.330	0.471	0.036	0.000
CURIEPE	0.995	0.895	0.995	0.245	0.005	0.000	0.237	0.124	0.021	0.094	0.080	0.226	0.011	0.027
TRINIDAD	0.984	0.757	0.991	0.109	0.000	0.005	0.111	0.231	0.062	0.169	0.175	0.166	0.020	0.059
B.C. ST.VINCENT	0.998	0.993	0.995	0.207	0.000	0.002	0.376	0.137	0.032	0.134	0.086	0.228	0.004	0.013
C. ST.VINCENT	0.991	0.978	0.971	0.115	0.000	0.000	0.225	0.186	0.051	0.181	0.110	0.227	0.027	0.095
B.C. LIVINGSTON	0.988	0.912	0.983	0.175	0.000	0.042	0.230	0.122	0.003	0.096	0.160	0.222	0.000	0.081
B.C. BELIZE	0.974	0.937	0.976	0.167	0.001	0.015	0.283	0.125	0.025	0.134	0.114	0.294	0.007	0.083
ESTADOS UNIDOS	0.991	0.912	0.959	0.219	0.011	0.008	0.140	0.164	0.044	0.165	0.131	0.256	0.009	0.041
AFRICA	0.999	0.936	0.963	0.177	0.001	0.020	0.069	0.148	0.027	0.160	0.158	0.233	0.054	0.087
ESPAÑA	0.959	0.877	0.978	0.283	0.045	0.000	0.114	0.209	0.057	0.287	0.067	0.409	0.000	0.000
IND. CAYAPAS	1.000	0.747	0.997	0.220	0.000	0.000	0.576	0.003	0.305	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000

En las tablas E.31. y E.32. figuran las contribuciones relativas y absolutas para poblaciones y alelos de los tres primeros ejes, y en las Figuras E.24. y E.25. las representaciones bidimensionales respecto al primer y segundo ejes y al primero y tercero, respectivamente, del análisis de las correspondencias.

La representación espacial de los dos primeros ejes (Figura E.24.), que explica el 64% de la variabilidad total, separa la comunidad de indios Cayapas, de la de españoles y del resto de las comunidades afro-americanas, que, a su vez, forman un grupo bastante compacto. Africa, que se incluye con las comunidades de afro-americanos se sitúa más hacia el exterior. La comunidad negra de Rio Cayapas, la cual está muy bien representada en el segundo eje (Tabla E.31.) resulta ser la más distante respecto a las otras poblaciones negras, debido a que presenta la frecuencia de la HB*C muy elevada. Excepto los alelos de las enzimas PGD, ESD y AK1, el resto son muy informativos contribuyendo en gran medida a la disposición de las poblaciones en el espacio (Tabla E.32.). En la representación respecto al primer y tercer eje (Figura E.25.), que explica el 60% de la variabilidad, se mantiene *a grosso modo* lo visto en la figura anterior, si bien, la comunidad de Rio Cayapas resulta más similar a Africa que Viche, y menos distante del resto de las comunidades afro-americanas. Paredao resulta extremamente muy distinto, presentando para el alelo ABO*B una frecuencia bastante elevada (33%) en comparación con las otras comunidades afro-americanas. Las comunidades de "Black Caribs" de Centro América se sitúan bastante próximas entre sí, y con las otras comunidades afro-americanas. Los indios Cayapas, a causa de la elevada frecuencia del alelo PGM2*2B, se sitúa distante de las otras poblaciones. Los alelos que más contribuyen a esta representación, además del ABO*B y del

Tabla E.31.- *Contribuciones relativas de los tres de las poblaciones y de los alelos.*

	X	Y	Z
RIO CAYAPAS	0.043924	0.375314	0.014561
VICHE	0.439293	0.055852	0.115778
PAREDAO	0.204636	0.001807	0.768689
CURIEPE	0.017016	0.064000	0.292216
TRINIDAD	0.189103	0.009246	0.063464
B.C. ST. VINCENT	0.186466	0.032086	0.011190
CR. ST. VINCENT	0.097019	0.098648	0.013014
B.C. LIVINGSTON	0.056389	0.076928	0.090664
B.C. BELIZE	0.038830	0.031098	0.067873
U.S.A.	0.343938	0.362038	0.092389
AFRICA	0.475436	0.164433	0.098910
ESPAÑA	0.127763	0.756091	0.008761
IND. CAYAPAS	0.976794	0.000931	0.009711

	X	Y	Z
AK1*1	0.234655	0.354026	0.020400
ESD*1	0.014880	0.119566	0.721585
PGD*A	0.341594	0.094145	0.017950
ACP1*A	0.140882	0.317868	0.446900
ACP1*C	0.051058	0.756221	0.024906
ACP1*R	0.045238	0.056247	0.096283
PGM1*1B	0.821172	0.003654	0.040893
PGM1*2A	0.665893	0.065423	0.040459
PGM1*2B	0.800103	0.013688	0.057288
ABO*A	0.567951	0.302528	0.006426
ABO*B	0.336855	0.033668	0.430944
RH*d	0.626150	0.061437	0.128543
HBß*C	0.074515	0.410358	0.000117
HBß*S	0.113318	0.302004	0.224711

Tabla E.32.- *Contribuciones absolutas de los tres ejes para las poblaciones y los alelos.*

	X	Y	Z
RIO CAYAPAS	0.009829	0.245741	0.012409
VICHE	0.019585	0.007286	0.019659
PAREDAO	0.054258	0.001402	0.776239
CURIEPE	0.000610	0.006718	0.039923
TRINIDAD	0.015055	0.002154	0.019243
B.C. ST. VINCENT	0.010198	0.005135	0.002331
CR. ST. VINCENT	0.004108	0.012222	0.002099
B.C. LIVINGSTON	0.006041	0.024116	0.036994
B.C. BELIZE	0.001301	0.003048	0.008659
U.S.A.	0.009928	0.030580	0.010157
AFRICA	0.041645	0.042146	0.032997
ESPAÑA	0.035645	0.617244	0.009309
IND. CAYAPAS	0.791798	0.002208	0.029981

	X	Y	Z
AK1*1	0.001675	0.007396	0.000555
ESD*1	0.000507	0.011917	0.093607
PGD*A	0.002500	0.002016	0.000500
ACP1*A	0.015478	0.102190	0.187000
ACP1*C	0.006300	0.273024	0.011704
ACP1*R	0.004012	0.014598	0.032525
PGM1*1B	0.265175	0.003453	0.050293
PGM1*2A	0.064969	0.018678	0.015034
PGM1*2B	0.346715	0.017356	0.094549
ABO*A	0.071244	0.111044	0.003070
ABO*B	0.064995	0.019009	0.316685
RH*d	0.126111	0.036207	0.098602
HBß*C	0.017638	0.284222	0.000106
HBß*S	0.012681	0.098889	0.095770

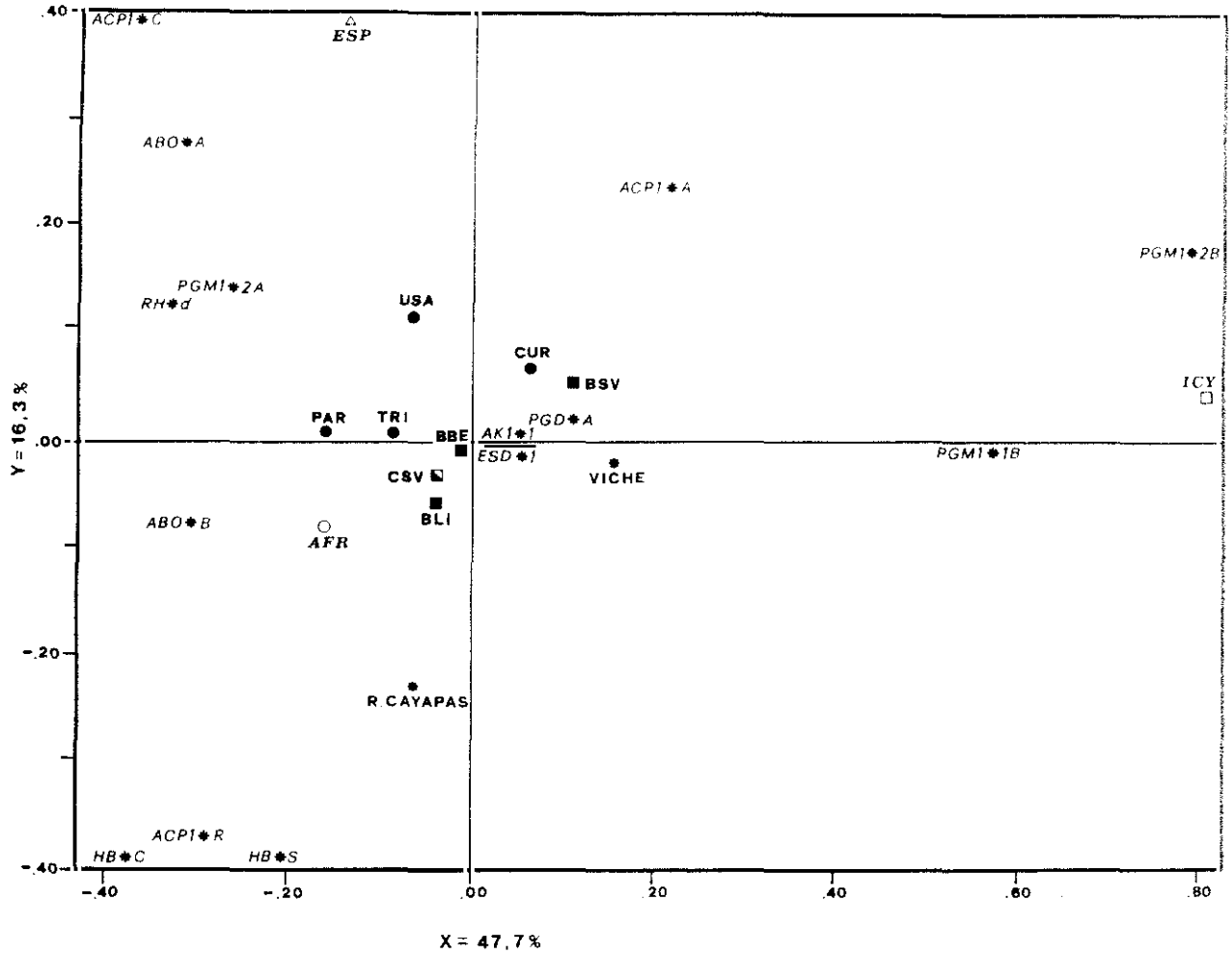


Fig. E.24.-

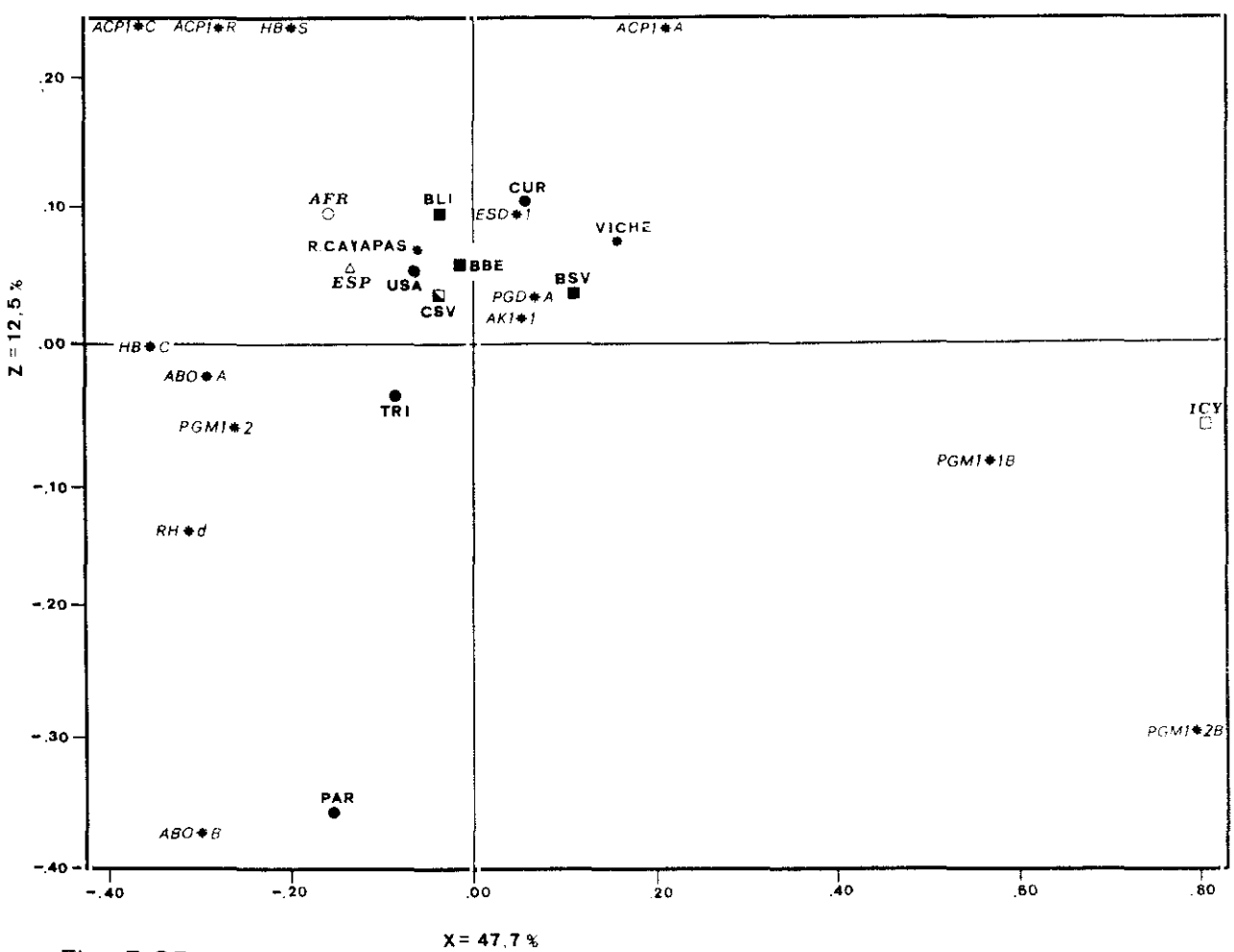


Fig. E.25.-

PGM2*2B, son el PGM1*1B, ACP1*A y el RH*d (Tabla E.32.).

Se han calculado las mismas distancias genéticas que en los análisis anteriores, y en las Tablas E.33. y E.34. aparecen las matrices de distancias correspondientes, y en la Figura E.26. aparece uno de los dendrogramas, el que presentaba el valor de R cofenético más elevado, elaborado a partir de la distancia de Cavalli-Sforza y Edwards. Se observa un gran cluster formado por todas las comunidades afro-americanas, junto con Africa. A este gran grupo se unen en último grado la población española, la comunidad de Paredao, y más distante aún, la comunidad de indios Cayapas. El valor de R cofenético es superior a 0,9 en todas las representaciones, indicando la buena correspondencia entre la matriz de distancias y la representación gráfica.

Se ha repetido el mismo análisis excluyendo la HB, por su posible influencia selectiva, y los resultados, no incluidos aquí, han sido practicamente idénticos.

Tabla E.33.- *Matriz de distancias genéticas:*
debajo de la diagonal: distancia de Prevosti (Wright, 1978),
encima de la diagonal: distancia genética de Nei (1972).

POBLACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1.- RIO CAYAPAS	****	.011	.042	.008	.018	.008	.007	.007	.015	.007	.007	.023	.075
2.- VICHE	.086	****	.045	.003	.012	.007	.003	.006	.006	.008	.012	.025	.039
3.- PAREDAO	.156	.149	****	.041	.025	.033	.034	.029	.041	.033	.039	.032	.104
4.- CURIEPE	.069	.038	.142	****	.013	.003	.002	.004	.006	.008	.009	.014	.051
5.- TRINIDAD	.104	.078	.102	.089	****	.009	.010	.014	.022	.011	.011	.023	.065
6.- U.S.A.	.069	.063	.132	.043	.071	****	.002	.004	.010	.006	.003	.008	.071
7.- B.C. LIVINGSTON	.070	.048	.140	.035	.075	.039	****	.002	.007	.005	.005	.016	.061
8.- B.C. BELIZE	.064	.051	.128	.052	.087	.048	.036	****	.004	.003	.009	.014	.058
9.- B.C. ST. VINCENT	.088	.059	.143	.047	.108	.066	.060	.053	****	.006	.019	.021	.042
10.- CR. ST. VINCENT	.064	.073	.121	.067	.067	.055	.053	.045	.058	****	.008	.019	.062
11.- AFRICA	.063	.085	.150	.071	.078	.041	.046	.055	.082	.054	****	.016	.091
12.- ESPAÑA	.126	.109	.126	.086	.106	.071	.103	.096	.113	.109	.106	****	.096
13.- IND. CAYAPAS	.206	.138	.227	.155	.179	.191	.180	.187	.149	.201	.217	.221	****

Tabla E.34.- *Matriz de distancias genéticas:*
debajo de la diagonal: distancia "E" de Edwards (1971,1974),
encima de la diagonal: arco distancia de Cavalli-Sforza & Edwards (1967).

POBLACION	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1.- RIO CAYAPAS	****	.103	.159	.093	.122	.096	.119	.096	.114	.080	.078	.156	.265
2.- VICHE	.114	****	.161	.051	.092	.080	.080	.070	.086	.084	.103	.138	.204
3.- PAREDAO	.174	.176	****	.151	.124	.143	.158	.148	.167	.152	.156	.158	.297
4.- CURIEPE	.105	.056	.167	****	.097	.061	.075	.065	.074	.085	.091	.109	.229
5.- TRINIDAD	.134	.100	.134	.107	****	.079	.099	.099	.137	.098	.088	.131	.258
6.- U.S.A.	.107	.086	.159	.067	.089	****	.071	.057	.095	.072	.058	.090	.262
7.- B.C. LIVINGSTON	.133	.089	.178	.085	.110	.077	****	.051	.096	.091	.084	.140	.259
8.- B.C. BELIZE	.106	.076	.166	.073	.108	.062	.056	****	.077	.059	.082	.121	.253
9.- B.C. ST. VINCENT	.127	.098	.188	.085	.154	.105	.109	.087	****	.078	.121	.135	.230
10.- CR. ST. VINCENT	.086	.094	.169	.096	.111	.082	.103	.067	.088	****	.078	.136	.260
11.- AFRICA	.086	.112	.173	.100	.098	.064	.092	.089	.133	.086	****	.133	.289
12.- ESPAÑA	.177	.149	.178	.119	.147	.100	.155	.135	.148	.154	.150	****	.290
13.-IND. CAYAPAS	.288	.223	.319	.247	.277	.282	.282	.276	.253	.285	.313	.310	****

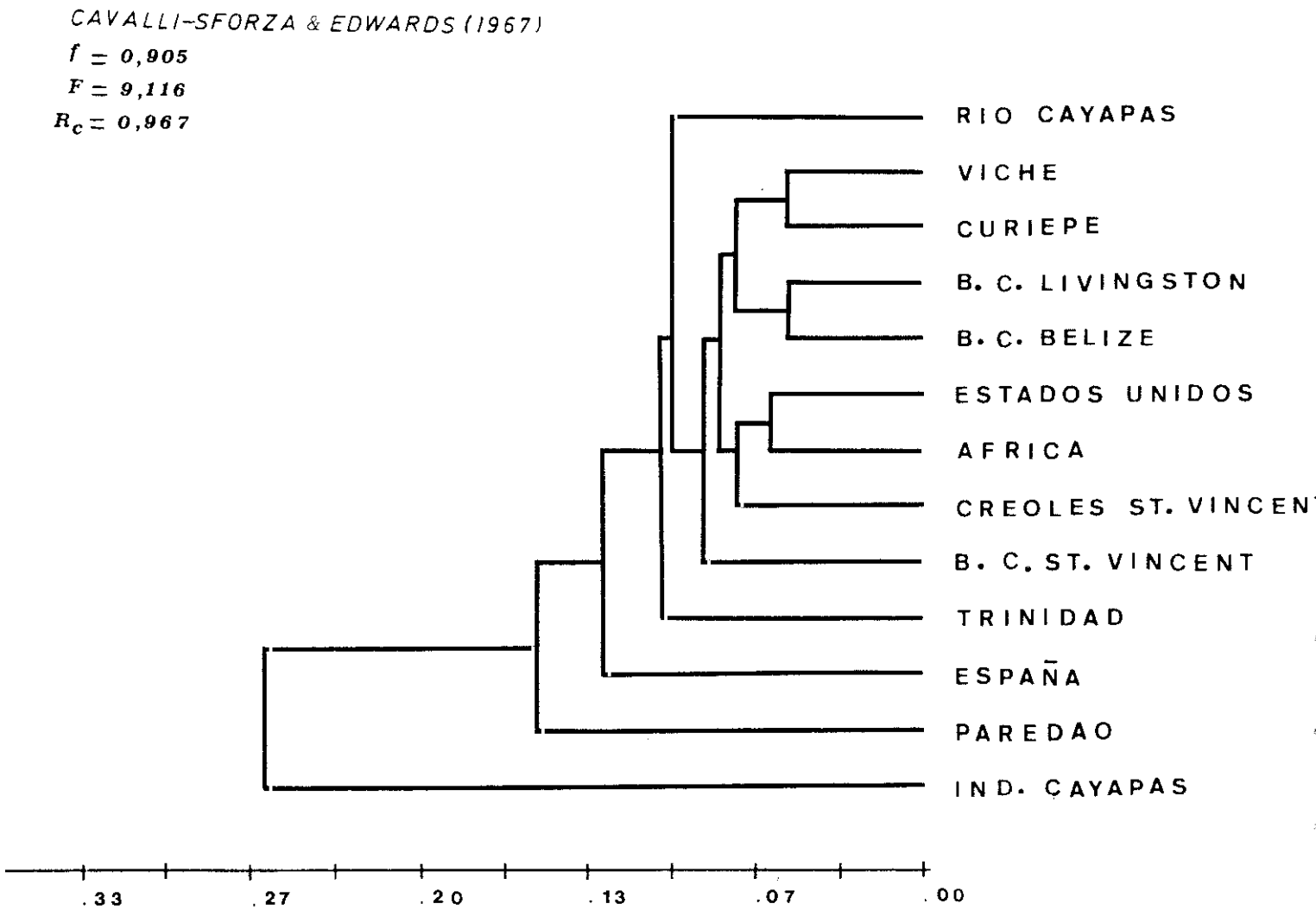


Fig. E.26.- *Dendrograma aplicando el algoritmo UPGMA a la matriz de distancias de Cavalli-Sforza y Edwards.*

E.1.3.5. ESTIMA DEL MESTIZAJE:

E.1.3.5.1. CONTRIBUCION DE LAS POBLACIONES PARENTALES EN LAS COMUNIDADES ANALIZADAS

El análisis de correspondencias y de distancias genéticas nos ha situado a las dos comunidades analizadas dentro del conjunto de las poblaciones afro-americanas y respecto a las tres representantes parentales. En general, y siempre dentro del conjunto de las muestras afro-americanas, las comunidades de Rio Cayapas y Viche se sitúan más próximas a la población parental africana, mientras que resulta geneticamente más distante respecto a la componente parental indígena, y más aún con la componente parental caucasoide. Para cuantificar el aporte de genes procedentes de los tres grupos parentales se ha procedido a estimar el mestizaje por el método de Krieger (1965). Se han utilizado 14 sistemas genéticos (ACP1, ADA, AK1, ESD, CA2, PGD, G6PD, PGM1, PGM1-IEF, PGM2, GLO1, HB, ABO, RH) y sus frecuencias en las poblaciones parentales africana, española y de indios Cayapas aparecen en la tabla E.35.

En la tabla E.36. aparecen los resultados de la estima del mestizaje para ambas comunidades afro-americanas objeto de este estudio.

Tabla E.36.- *Estimas del mestizaje para las comunidades afro-americanas de Rio Cayapas y Viche, según el método de Krieger et al., (1965), usando 14 sistemas.*

	% NEGRO	% INDIO	% BLANCO
RIO CAYAPAS	76,3 ± 16,5	14,1 ± 15,0	9,6 ± 18,8
VICHE	60,9 ± 14,2	30,4 ± 14,5	8,7 ± 13,9

Tabla E.35.- *Frecuencias de las poblaciones parentales africana, española y de indios Cayapas, utilizadas para llevar a cabo el cálculo de la estima del mestizaje.*

ALELOS	*NEGROIDE*	*CAUCASOIDE*	*INDIGENA*
ACP1*A	0,177	0,238	0,220
ACP1*B	0,802	0,672	0,780
ACP1*C	0,001	0,045	0,000
ACP1*R	0,020	0,000	0,000
ADA*1	0,994	0,950	1,000
ADA*2	0,000	0,050	0,000
ADA*5	0,006	0,000	0,000
AK1*1	0,999	0,959	1,000
AK1*2	0,001	0,041	0,000
CA2*1	0,902	1,000	1,000
CA2*2	0,098	0,000	0,000
ESD*1	0,936	0,877	0,747
ESD*2	0,064	0,121	0,253
ESD*5	0,000	0,002	0,000
GD*B	0,638	1,000	1,000
GD*A	0,226	0,000	0,000
GD*A-	0,136	0,000	0,000
GLO1*1	0,316	0,492	0,311
GLO1*2	0,684	0,508	0,689
HBß*A	0,859	1,000	1,000
HBß*C	0,054	0,000	0,000
HBß*S	0,087	0,000	0,000
PGD*A	0,963	0,978	0,997
PGD*C	0,037	0,022	0,003
PGM1*1	0,820	0,737	0,692
PGM1*2	0,180	0,263	0,308
PGM1*1A	0,756	0,620	0,116
PGM1*1B	0,069	0,114	0,576
PGM1*2A	0,148	0,209	0,003
PGM1*2B	0,027	0,057	0,305
PGM2*1	0,995	1,000	1,000
PGM2*2	0,005	0,000	0,000

Ambas comunidades tienen alta proporción de componente negro y relativamente baja proporción de componente indígena y caucasoide. Las dos comunidades afro-americanas presentan un porcentaje de componente caucasoide practicamente idéntico (10 y 9%), mientras que se diferencian respecto a la componente indígena, que es mucho más elevada -más del doble- en Viche (30%) respecto a la de Rio Cayapas (14%).

En estas estimas, el error es muy alto, debido al tamaño de las muestras, por ello estas contribuciones relativas deben interpretarse con precaución, no obstante, estas indican, sin duda, que en ambas comunidades la mayor contribucción genética es la africana y que en Viche la componente india es mucho más alta respecto de la de Rio Cayapas.

El alto componente africano en la comunidad fluvial de Rio Cayapas (76%), respecto a la proporción india (15%), es debido a un relativo aislamiento de esta comunidad respecto de las comunidades que viven junto a ella. Además, se tienen que tener en cuenta las leyes, que existían en época colonial, para evitar los matrimonios entre negros e indios (ver capítulo de Historia, página 42) y el prejuicio, que actualmente, tienen los indios para casarse con los individuos negros. Esto ha sido confirmado al estudiar el aporte de alelos típicos negroides de los sistemas HB, G6PD y CA2, en la comunidad indígena de indios Cayapas, para la cual este aporte resultó no ser superior a un 2% (Rickards *et al.*, 1993).

Respecto a la comunidad afro-americana de Viche, que como ya se ha dicho, es una comunidad urbana, la proporción de genes indígenas es más elevada (30%), lo cual indica un patrón matrimonial más exógamo. Al no existir documentación sobre la presencia de comunidades nativas americanas en Viche, el aporte de genes indígenas es debido al mestizaje con la población ladina o mestiza.

Esta diferencia entre ambas comunidades en el modelo matrimonial ha sido, también, evidenciado a partir de los datos de biodemografía obtenidos que son analizados en otro capítulo.

E.1.3.5.2. COMPARACION CON OTRAS COMUNIDADES AFRO-AMERICANAS

Un aspecto de interés se refiere a la comparación de las estimas de mestizaje obtenidas con las de otras comunidades afro-americanas presentes en la literatura; en la Tabla E.37. aparecen los valores correspondientes y en la Figura E.27. una representación de las mismos. Es de destacar el hecho de que el tipo, número de sistemas utilizados, así como el método de cálculo, no son en todos los casos similares, incluso pueden ser muy distintos.

Se puede observar que existen comunidades di y trihíbridas, según presenten porcentajes para los tres componentes o esté ausente el componente indígena.

Son comunidades dihíbridas las de Jamaica, Cuba y Estados Unidos.

Entre las comunidades trihíbridas se pueden diferenciar dos grandes grupos:

- las que presentan el componente blanco con la proporción más elevada, entre el 43 y 62% (Aracaju, Natal, Coari, Oriximina, Sao Paolo y Manaus, todas ellas de Brasil);

- las que presentan predominantemente un componente negro, que oscila entre el 56 y 80%. En este grupo predominantemente negro, se pueden diferenciar las distintas proporciones de componente caucasoide e indígena. Por ejemplo, la comunidad de Viche tiene una contribución indígena del 30%, similar a las comunidades de Cameta, Bluefields, y los "Black Caribs" de Owia en St. Vincent; mientras que la comunidad afro-americana de Rio Cayapas, con una proporción indígena del 14% es más similar a las comunidades de Curiepe y Trombetas (Bortolini *et al.,* 1992; Schneider *et al.,* 1987). Por último, se pone de manifiesto cómo las comunidades de creoles, presentan un elevado porcentaje de componente negroide y caucasoide pero, en proporción escasa, el componente indio (Crawford

1983).

Tabla E.37.- *Relación de las comunidades afroamericanas para las cuales se ha hecho una estima del mestizaje.*

POBLACION	NEGRO	INDIO	BLANCO	N° SISTEMA	REF. BIBLIOGRAFICA
Rio Cayapas	76,27	14,09	9,64	14	P.E.
Viche	60.91	30,43	8,66	14	P.E.
Belem	27	20	53	1	Schneider, Salzano, 1979
Paredao	79,1	2,8	18,1	13	Bartolini *et al.*, 1992
Aracaju	34	4	62	12	Conceiçao *et al.*, 1987
Natal	25	17	58	8	Franco *et al.*, 1982
Coari	14	43	43	8	Hamel *et al.*, 1984
Manaus	13	29	58	6	Hamel *et al.*, 1984
Parintins	13	51	36	7	Hamel *et al.*, 1984
Cameta	49,6	32,3	18,0	13	Bartolini *et al.*, 1992
Oriximina	15	28	57	13	Santos *et al.*, 1987
Trombetas	62	11	27	11	Schneider *et al.*, 1987
Sao Paolo (NE inmigr.)	30	11	59	17	Krieger *et al.*, 1965
Curiepe	57,5	14	28,5	13	Bartolini *et al.*, 1992
Tapipa	53-63	11-14	26-33		Arends *et al.*, 1978
Trinidad	75	--	25	6	Saha y Samuel, 1987
Bluefields	66	33	1	7	Biondi *et al.*, 1988
B.C.Sandy Bay (St. Vincent)	41,1	42,2	16,7	1	Crawford, 1983
B.C. Owia (St Vincent)	57,9	32,3	9,8	1	Crawford, 1983
C.St.Vincent	79,0	5,4	15,6	1	Crawford, 1983
B.Livingston	75,2	22,4	2,4	7	Crawford *et al.*, 1981
B.Pta. Gorda	71,0	24,1	4,9	1	Crawford, 1983
B.C. Hopkins	75,6	23,9	0,5	1	Crawford, 1983
B. Stan Greek	79,9	17,4	2,7	1	Crawford, 1983
C.Pta. Gorda	52,0	5,2	42,8	1	Crawford, 1983
C.Stan Greek	75,5	7,4	17,1	1	Crawford, 1983
C.Belize Cit.	74,7	8,6	16,7	1	Crawford, 1983
Jamaica	82	--	18	2	Gibbs *et al.*, 1972
Haiti	82	2,5	15,5	7	Basu *et al.*, 1976
Mulatos Cuba	47	--	53	5	González *et al.*, 1976
Negros Cuba	87	--	13	5	González *et al.*, 1976
USA	24,8	--	75,2	18	Chakraborty *et al.*, 1992
	28,97	--	71,03		Reed, 1969
	20-30	--	80-70	1	Glass y Li, 1953
					Glass, 1955

Estos resultados del mestizaje obtenidos en poblaciones afro-americanas, confirman la existencia de una cierta heterogeneidad entre las mismas.

Sin olvidar los posibles errores de muestreo, consecuencia de los tamaños pequeños en las series analizadas, son varios los factores que han podido influir en la mezcla de estos grupos, entre ellos son de destacar:

- la distinta historia que ha tenido lugar en las diversas comunidades afro-

americanas,

- el aislamiento tanto geográfico como cultural,

- los factores microevolutivos, como el "efecto fundador", "cuello de botella" o la deriva genética cuya acción se puede ver incrementada a causa de la dimensión pequeña de los efectivos de muchas de estas poblaciones,

- el tipo de modelo matrimonial que, en algunos casos, ha permitido la formación de parejas con miembros de distintos grupos, o al contrario.

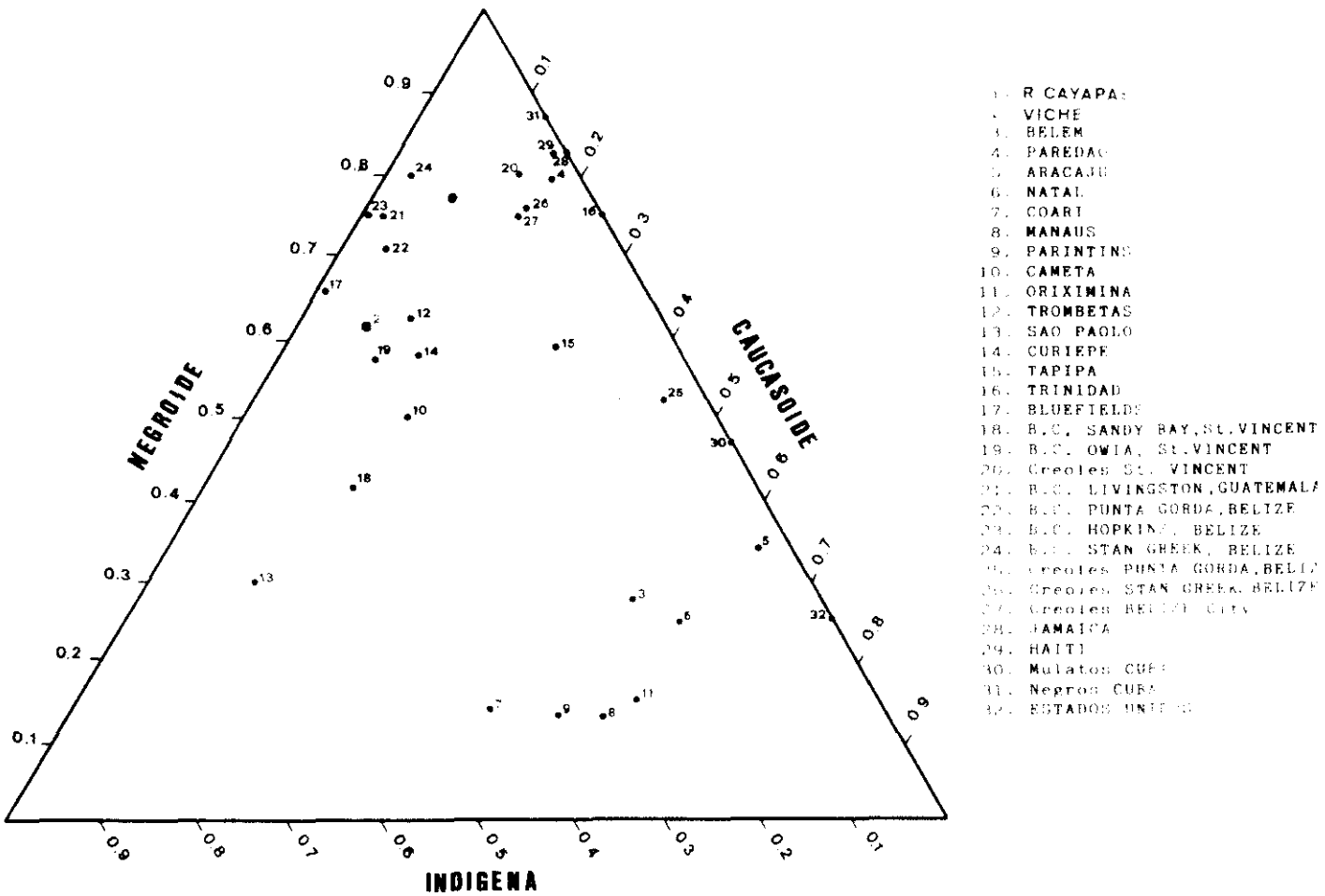


Fig. E.27.- *Representación gráfica de los porcentajes de componentes caucasoide, negroide y nativo americano, resultado del mestizaje en las distintas comunidades Afro-americanas.*

E.2. ADN MITOCONDRIAL: DELECCION REGION V

En la Tabla E.38. aparecen las frecuencias absolutas y relativas de individuos portadores de la delección de la región V en las dos comunidades afro-americanas objeto de este estudio.

Tabla E.38.- *Frecuencia de la delección de la región V en las comunidades afro-americanas de Ecuador*

	Delección	*Total*	*Frecuencia*
Rio Cayapas	2	55	0,036
Viche	10	45	0,222

En la Figura E.28. se puede observar el patrón electroforético de fenotipos que presentan la delección y normales, es decir, con 112 y 121 pb, respectivamente.

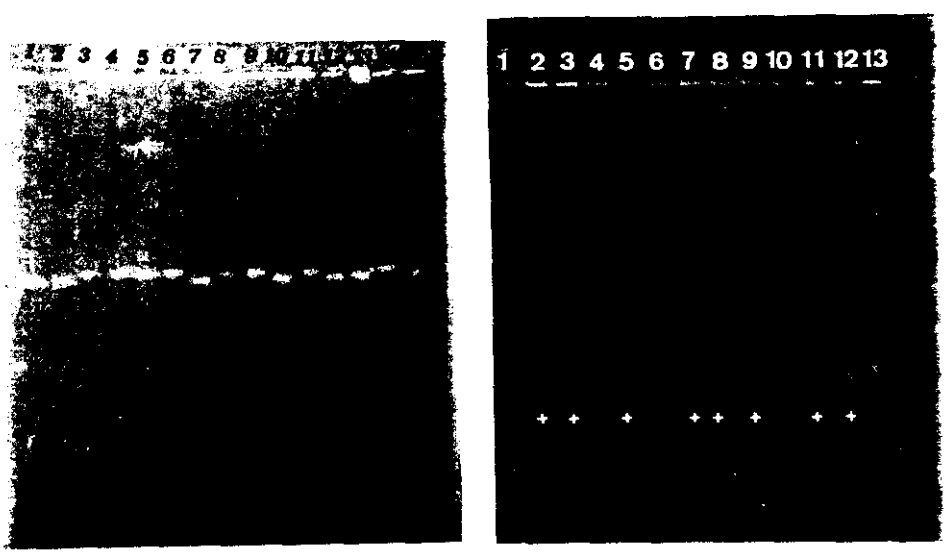


Fig. E.28.- *Electroforesis en agarosa al 4% con fenotipos que presentan la delección y normales.*

Las muestras son reducidas debido a que se han excluido totalmente a los emparentados y se han garantizado las distintas lineas maternas, al no considerar segundos apellidos idénticos.

La Tabla E.38. indica la presencia de diferencias significativas ($p < 0,001$) respecto a la presencia de la delección cuando se comparan ambas comunidades: Viche presenta porcentajes altos (22%) frente al valor de 3,6% de Rio Cayapas.

Como ya se había puesto en evidencia (ver introducción) se trata de un marcador muy útil para analizar las comunidades afro-americanas, que como en el caso de Rio Cayapas y Viche son trihíbridas, y se puede valorar la contribución genética de la componente indígena. En la Tabla E.39. aparecen las frecuencias de la delección de la región V en las poblaciones parentales de estas comunidades afro-americanas de Ecuador, podemos observar que dicha delección sólo está presente en las comunidades de Indios Cayapas, que son las que viven en el mismo área de las comunidades analizadas en el presente estudio.

Tabla E.39.- *Frecuencias de la delección de la región V en las poblaciones africana, española y de indios Cayapas.*

	% Delección
Africa[1]	0
Europa[1]	0
Indios Cayapas[2]	41,5

(1) Para las referencias bibliográficas de las comunidades parentales ver el capítulo C.3.

(2) La frecuencia ha sido calculada en un total de 123 individuos, tomada de Rickards y Cann (1991) y de datos no publicados.

La frecuencia de 41,5% en los indios Cayapas de Ecuador, es comparable con la que se ha encontrado en los indios Pima de México y U.S.A. (45%) y superior a la de los indios Maya (21,6%) (Schurr *et al.*, 1990). Horai *et al.*, (1993) en una muestra de indios americanos pertenecientes a distintos grupos ha encontrado una frecuencia media del 18,0%, no existiendo la delección en algunos de ellos, como son los indios Ticuna de Brasil (Schurr *et al.*, 1990).

Al comparar la frecuencia entre las dos comunidades afro-americanas de Ecuador, podemos observar que la comunidad de Viche presenta una frecuencia bastante mayor respecto de la de rio Cayapas (22% frente a 4%). Este dato confirma lo que ya había sido puesto en evidencia a partir de los datos de los genes nucleares, es decir, la relativamente elevada contribución de genes indígenas en el pool génico de la comunidad afro-americana de Viche. Muy probablemente, estos genes indígenas hayan sido introducidos por medio de los "ladinos" (resultado de *mezclas de los tres componentes principales), teniendo en cuenta que no existen* actualmente comunidades de indios en Viche, si bien, no se puede excluir la posibilidad del aporte de genes indígenas en época antigua, en el momento de la llegada a Ecuador de estas comunidades negras (ver capítulo de historia), aunque este aporte fuera pequeño.

La presencia de la delección en la comunidad afro-americana de Rio Cayapas, si bien con una frecuencia baja, puede ser explicada por el aporte de genes desde la comunidad de indios Cayapas con la que habita, probablemente en época antigua, dada la practicamente ausencia de cruzamientos mixtos en la actualidad, y que se ha mantenido por el sucesivo aislamiento genético (Ver resultados de biodemografía).

Por tanto, a modo de resumen, se puede reseñar que el aporte de genes desde las comunidades indígenas hasta los individuos negroides de Ecuador, se ha producido en mayor grado en la localidad de Viche, al menos, con este dato del ADN mitocondrial, aunque se puede estudiar solamente las lineas maternas, o lo que es lo mismo, la contribución de las mujeres indígenas al "pool" génico de la población afro-americana.

Este resultado, es comparable con el obtenido para los genes nucleares a través de la estima del mestizaje. Es decir, que el aporte masculino y femenino observado a partir de los marcadores proteicos concuerda con lo observado respecto a un marcador del ADN mitocondrial, el cual refleja solamente el aporte femenino. Por lo tanto, se puede deducir que han existido parejas reproductoras de mujeres indias y varones negros, si bien no sabemos hasta que grado han podido existir cruzamientos de mujeres negras y varones indígenas. Si bien, a través de los documentos históricos se conoce que la llegada de mujeres africanas fué en menor número en relación a la de varones, un estudio reciente de Hsieh y Sutton (1992) en la comunidad negra de Estados Unidos, ha puesto en evidencia al estudiar genes nucleares y del DNA mitocodndrial que, la contribución de mujeres blancas a la comunidad negra, ha sido en igual medida que la de hombres, en contra de lo establecido desde hacia tiempo.

E.3. ANALISIS BIODEMOGRAFICO:

Al hacer un estudio biodemográfico en comunidades del tipo de las analizadas en el presente estudio, se plantean una serie de problemas, como es la falta de archivos, censos, mapas, divisiones políticas claras, etc... e incluso el grado de entendimiento con los individuos que forman parte de dichas comunidades. Dicho estudio se ha elaborado con datos aportados por la comunicación oral y, si bien son escasos, pueden servir de base para el conocimiento de los patrones matrimoniales y movilidad de los sujetos de ambas comunidades afro-esmeraldeñas.

E.3.1. COMUNIDAD DE RIO CAYAPAS:

Como ya se indicó en la introducción, la comunidad afro-americana de Rio Cayapas se sitúa a lo largo del curso del rio, que lleva su nombre, y de sus afluentes (Fig. D.1. en el capítulo de Material y Métodos). Al analizar las fichas que se recogieron junto con las muestras de sangre, se ha podido observar que los lugares de nacimiento de los individuos pertenecen a las parroquias del cantón de Eloy Alfaro, representado en la Figura E.29.

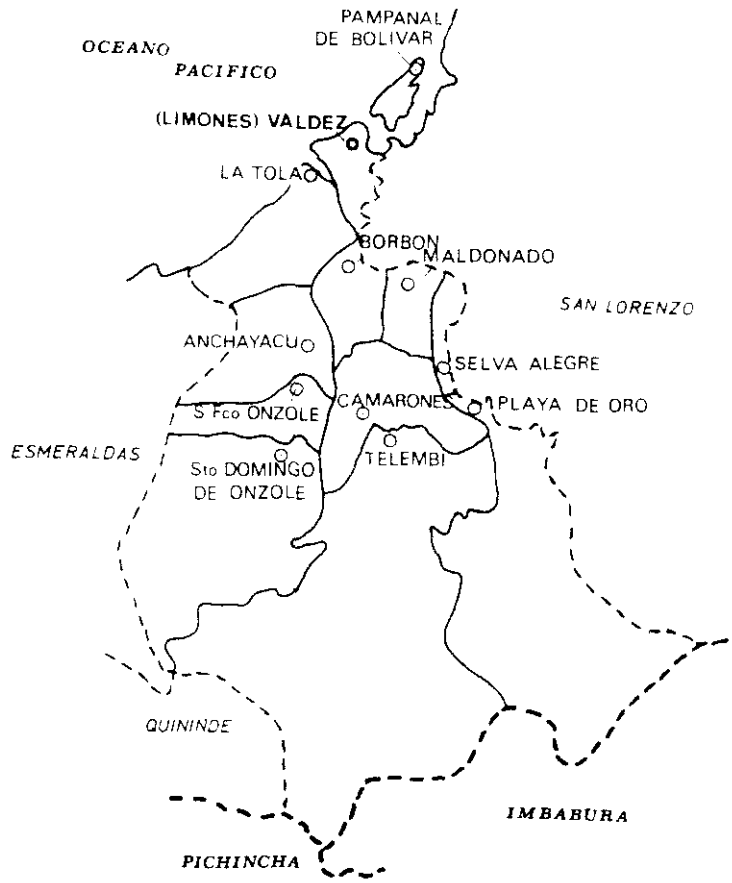


Fig. E.29.- *Mapa del cantón de Eloy Alfaro, con las distintas parroquias que lo componen.*

Igualmente, a partir de la muestra de población, se ha podido establecer, que los individuos que habitan en esta zona y que pertenecen a dichas parroquias, presentan un patrón matrimonial establecido, en donde sólo aparecen parejas de negros o de indios Cayapas, no habiendose encontrado parejas mixtas. En este estudio, sólo se han incluido las muestras de los individuos cuyos padres y abuelos se definían como negros, mientras que los indios Cayapas han sido objeto de otro estudio (Rickards *et al.,* 1993).

A partir del análisis de apellidos, se puede observar que la mayoría corresponden a apellidos tipicamente de origen colombiano (ver página 43), que se presentan con una frecuencia elevada como, por ejemplo: Nazareno (16,3%) Ayovi (16,3%), Caicedo (7,9%)... (Figura E.30.).

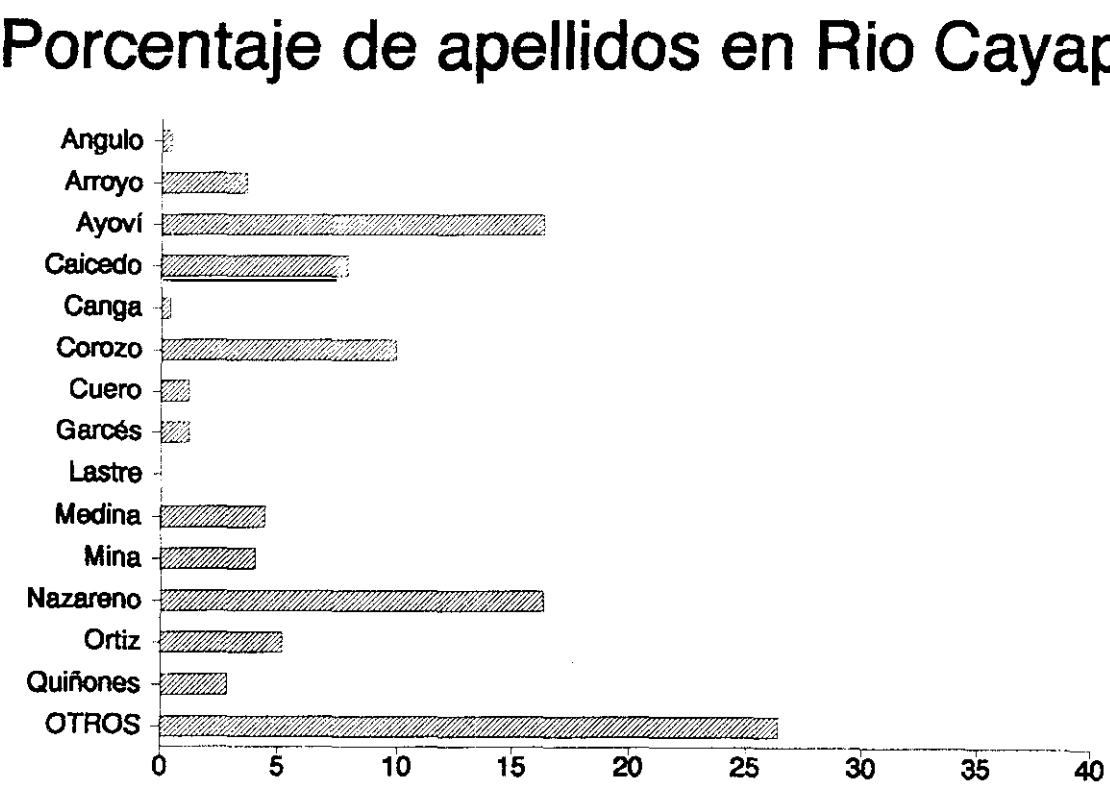


Fig. E.30.- *Frecuencias porcentuales de los apellidos de origen colombiano, frente a los de otras procedencias, que aparecen en "otros".*

Se han elaborado las matrices de migración a partir del lugar de nacimiento del padre y la madre, individuo y padre e individuo y madre que aparecen en las tablas E.40., E.41. y E.42.

Tabla E.40.- *Matriz de migración según el lugar del nacimiento del padre y de la madre.*

padre / madre	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
A.- Playa de Oro	**2**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B.- Telembi	2	**40**	1	0	4	0	2	1	0	0	1	9	1	0
C.- Sto. Domingo	0	2	**2**	0	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0
D.- S. Francisco	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E.- Camarones	0	5	5	0	**13**	1	0	1	0	0	0	2	1	0
F.- Selva Alegre	0	0	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0
G.- Maldonado	0	1	1	0	3	3	**3**	0	0	0	0	1	1	0
H.- Borbón	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0	0	0	0	0	0
I.- Anchayacu	0	0	1	0	1	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0
J.- La Tola	0	0	0	0	0	1	0	0	0	**0**	0	0	0	0
K.- Limones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0	0	0
L.- S. Lorenzo	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	2	**1**	0	0
M.- Otros cantones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0
N.- Exterior	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	**1**

Tabla E.41.- *Matriz de migración según el lugar del nacimiento del padre y del individuo.*

individuo / padre	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
A.- Playa de Oro	**1**	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B.- Telembi	0	**59**	2	0	5	0	4	1	2	1	0	3	0	2
C.- Sto. Domingo	0	0	**1**	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D.- S. Francisco	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E.- Camarones	1	3	3	0	**17**	0	1	0	0	0	0	0	1	0
F.- Selva Alegre	0	0	2	0	2	**0**	4	0	0	0	0	0	0	0
G.- Maldonado	0	0	0	0	0	0	**2**	0	0	0	0	0	0	0
H.- Borbón	0	0	0	0	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0
I.- Anchayacu	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0	0	0	1	0
J.- La Tola	0	3	0	0	1	0	0	0	0	**2**	0	0	0	0
K.- Limones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	1	0	1
L.- S. Lorenzo	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0	2
M.- Otros cantones	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**0**	1
N.- Exterior	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**

Tabla E.42.- *Matriz de migración según el lugar del nacimiento de la madre y del individuo.*

individuo / madre	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
A.- Playa de Oro	**1**	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0
B.- Telembi	2	**45**	6	0	5	0	1	2	0	1	1	8	3	0
C.- Sto. Domingo	0	1	**1**	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D.- S. Francisco	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E.- Camarones	0	2	6	0	**11**	0	2	1	0	0	0	1	2	0
F.- Selva Alegre	0	0	0	0	1	**6**	0	0	0	0	0	1	0	0
G.- Maldonado	0	0	0	0	0	0	**2**	0	0	0	0	0	0	0
H.- Borbón	0	0	0	0	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0
I.- Anchayacu	0	0	1	0	1	0	0	0	**1**	0	0	0	0	0
J.- La Tola	1	5	0	0	1	0	1	0	0	**3**	0	1	0	0
K.- Limones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**3**	0	0	0
L.- S.Lorenzo	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	**3**	0	0
M.- Otros cantones	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	**1**	0
N.- Exterior	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**1**

Las filas y las columnas corresponden a las 11 parroquias del cantón de Eloy Alfaro, y las tres restantes: una al limítrofe cantón de San Lorenzo, el cual esta bañado por algunos de los afluentes del rio Cayapas; otra al resto de los cantones de Esmeraldas, que son Quininde, Esmeraldas, Muisne y Atacames, y la última, a los individuos que proceden de otras provincias de Ecuador o Colombia.

A partir de estas tres matrices, se ha elaborado la matriz de progenitores/descendientes que aparece en la tabla E.43., en la cual aparecen solamente las casillas de las parroquias del cantón de Eloy Alfaro, y tan solo una columna que indica la procedencia de los progenitores del exterior (donde se incluyen otros cantones, otras provincias o Colombia).

Tabla E.43.- *Matriz de migración según el lugar del nacimiento de los progenitores y de la descendencia.*

Descend. Progeni.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	Migr.
A.- Playa de Oro	**2**	3	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0
B.- Telembi	2	**104**	8	0	10	0	5	3	2	2	1	16
C.- Sto. Domingo	0	1	**2**	0	2	0	0	0	0	0	0	0
D.- S. Francisco	0	0	0	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0
E.- Camarones	1	5	9	0	**28**	0	3	0	0	0	0	4
F.- Selva Alegre	0	0	2	0	3	**6**	4	0	0	0	0	1
G.- Maldonado	0	0	0	0	0	0	**4**	0	0	0	0	0
H.- Borbón	0	0	0	0	0	0	0	**0**	0	0	0	0
I.- Anchayacu	0	0	1	0	1	0	0	0	**2**	0	0	1
J.- La Tola	1	8	0	0	2	0	1	0	0	**5**	0	1
K.- Limones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**4**	2

Dado el tamaño reducido de la muestra y el elevado número de filas y columnas correspondientes a las parroquias, existen bastantes casillas con una representación mínima. Respecto a las parroquias de San Francisco de Onzoles y de Borbón, se ha visto conveniente eliminarlos de los análisis posteriores, por no

estar representadas. En cualquier caso, aunque los datos no son numerosos, la diagonal que se corresponde con los progenitores y descendientes procedentes de la misma parroquia, y que aporta el coeficiente de endogamia, incluye la mayoría de los individuos examinados (60%), mientras que son pocos los procedentes del exterior del cantón (9,5%).

En la tabla E.44. aparecen las distancias entre las distintas parroquias del cantón, en kilómetros, calculadas a partir de los mapas como la linea aerea.

Tabla E.44.- *Distancias en kilómetros entre las distintas parroquias del cantón de Eloy Alfaro.*

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A.- Playa de Oro	**0**										
B.- Telembi	17	**0**									
C.- Sto. Domingo	31	15	**0**								
D.- S. Francisco	31	23	15	**0**							
E.- Camarones	20	13	14	12	**0**						
F.- Selva Alegre	8	18	25	25	15	**0**					
G.- Maldonado	22	32	37	28	23	15	**0**				
H.- Borbón	29	34	36	23	13	21	7	**0**			
I.- Anchayacu	29	26	23	9	13	22	20	15	**0**		
J.- La Tola	44	49	48	34	37	36	32	16	25	**0**	
K.- Limones	45	52	53	40	41	37	22	18	31	8	**0**

A partir del Censo de Población para la provincia de Esmeraldas de 1991, se han estimado los tamaños efectivos (Tabla E.45.).

Tabla E.45.- *Censos de población en las distintas parroquias, porcentaje de individuos negros y censo efectivo.*

	CENSO DE POBLACION	*85% POB. NEGRA*	*TAMAÑO EFECTIVO*
Playa de Oro	215	183	61
Telembi	2235	1900	633
Sto. Domingo	1403	1193	398
S. Francisco	1204	1023	341
Camarones	1589	1351	450
Selva Alegre	1266	1076	359
Maldonado	1772	1506	352
Borbón	4233	3598	1199
Anchayacu	1372	1166	389
La Tola	3600	3060	1020
Limones	6500	5525	1842

Los valores de **Fst** obtenidos se muestran a continuación:

Fst = 0,03260

Fst esperado = 0,00023586

Dado el tamaño de las subpoblaciones que se estudia, este valor es bastante más alto de lo que cabría esperarse bajo diferenciación aleatoria, ya que el valor obtenido bajo condiciones de panmixia es mucho más bajo. Este resultado nos indica que la comunidad afro-esmeraldeña de Rio Cayapas, se encuentra relativamente aislada, es bastante endógama, como cabía esperar a partir de los datos directos de la matriz de migración; y, está en relación con el área de distribución de esta comunidad en zonas de selva húmeda, si bien, hay que tener en consideración que se trata de una muestra escasa.

En cuanto a la matriz de parentesco condicional, su ajuste a un espacio bidimensional mediante el MDS es bastante bueno, dando un estres del 1,4%. En la Tabla E.46. aparecen los valores de las coordenadas obtenidas y en la Figura

E.31. la representación gráfica de estas localidades, siendo el origen de las flechas las coordenadas geográficas y el final las coordenadas "genéticas", obtenidas ambas mediante el programa MDS para que las escalas sean comparables.

Tabla E.46.- *Coordenadas genéticas y geográficas de las parroquias del cantón de Eloy Alfaro.*

	GENETICAS		*GEOGRAFICAS*	
	ABSCISAS	*ORDENADAS*	*ABSCISAS*	*ORDENADAS*
Playa de Oro	0,419	-0,384	1,020	-0,896
Telembi	0,274	0,546	0,140	-1,434
Sto. Domingo	-0,246	0,353	-0,913	-1,426
Camarones	-0,159	0,123	-0,414	-0,675
Selva Alegre	0,527	-0,866	0,567	-0,433
Maldonado	-0,214	-3,125	0,761	0,562
Anchayacu	-0,297	0,868	-0,695	0,246
La Tola	-0,074	0,182	-0,601	1,916
Limones	-0,232	2,303	0,135	2,142

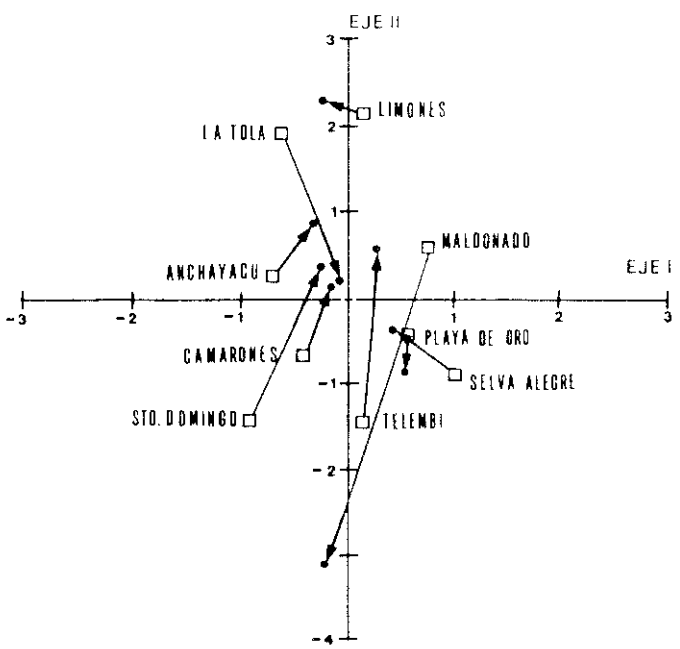


Fig. E.31.- *Representación de las coordenadas genéticas y geográficas de las parroquias del cantón de Eloy Alfaro a partir de la matriz de parentesco condicional después de aplicar el programa MDS.*

Las parroquias se sitúan en general próximas entre sí, con un patrón acorde con la principal vía de comunicación existente que es el río, ya que se acercan a una linea diagonal, claramente relacionada con el curso de este medio de locomoción. La parroquia de Maldonado, sin embargo, se aleja del resto, lo cual podría indicar que tiene menor proporción de individuos negros que las otras, de modo que el censo efectivo sería menor (lo cual no es posible verificar porque no se dispone de censos según el grupo étnico para las distintas parroquias), o bien, que está más aislada.

E.3.2. COMUNIDAD AFRO-AMERICANA DE VICHE:

La parroquia de Viche se sitúa en el cantón de Quininde, en el cual la cabeza cantonal es la localidad de Rosa Zarate, también llamada Quininde (Figura E.32.).

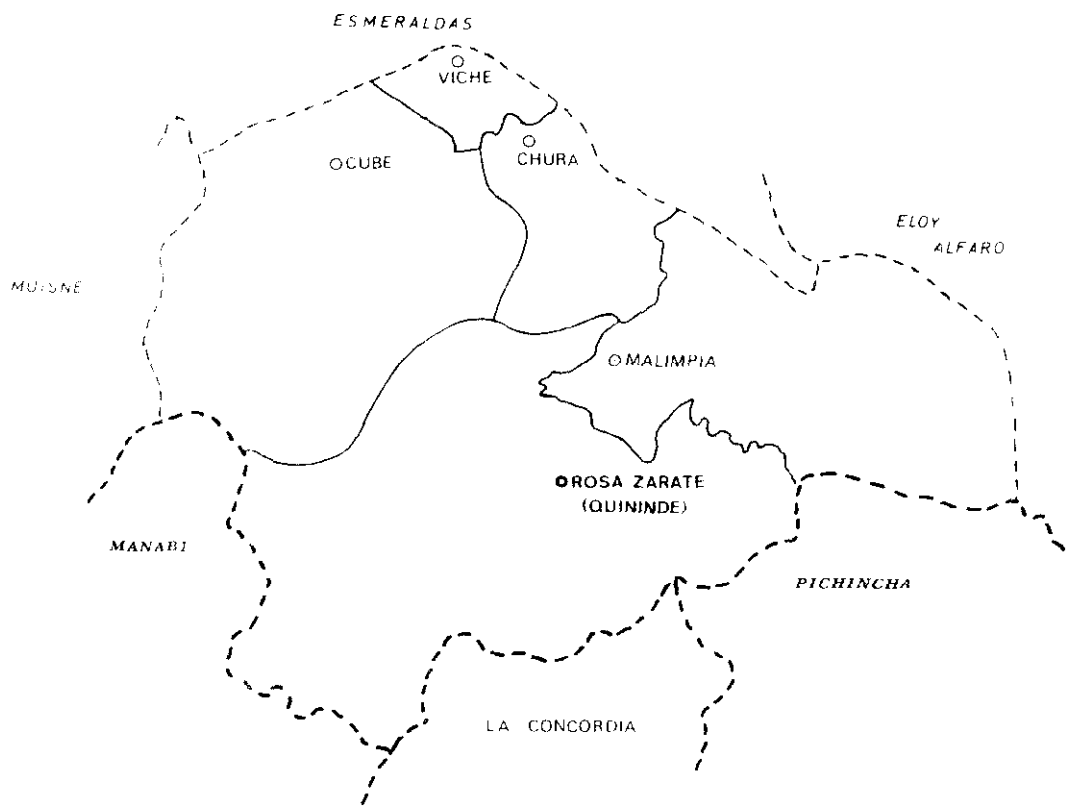


Fig. E.32. *Mapa del cantón de Quininde con sus respectivas parroquias.*

A partir de la información obtenida con cada muestra de sangre, se ha podido elaborar la tabla E.47. según los componentes de los matrimonios.

Tabla E.47.- *Tipos de parejas en la comunidad de Viche.*

♂ ♀	NEGRA	MULATA	MESTIZA	LADINA
NEGRO	73	8	1	6
MULATO	6	4	0	2
MESTIZO	1	0	13	0
LADINO	5	1	0	68

Para el presente estudio sólo se han tenido en consideración los individuos cuyos padres y abuelos se consideraban negros.

Igualmente, a partir de dichas fichas se ha hecho un estudio de los apellidos, viendo la frecuencia de aparición de los mismos. En conjunto aparece mucha variedad, y la presencia de apellidos tipicamente colombianos es baja, por ejemplo: Nazareno (2,2%), Ayoví (1,5%), Caicedo (0%).., mientras que son abundantes los de otros orígenes que alcanzan el 71,3%, como es el caso de Estupiñan que procede de la costa norte de Esmeraldas (ver página 44) (Figura E.34.).

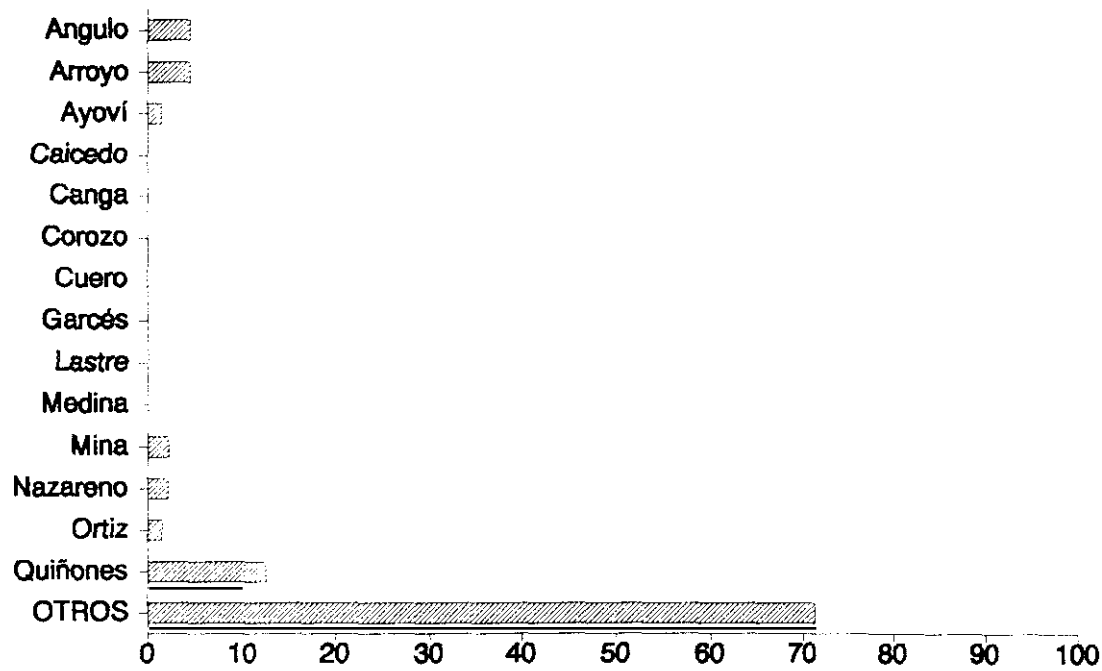


Fig. E.34.- *Frecuencias porcentuales de los apellidos de origen colombiano, así como los de otro origen distinto.*

Se han elaborado las matrices de migración según el lugar de nacimiento del padre y la madre, individuo y padre e individuo y madre que aparecen en las tablas E.48., E.49. y E.50.

Tabla E.48.- *Matriz de migración según el lugar de nacimiento del padre y de la madre.*

Padre Madre	A	B	C	D	E	F	G	H
A. Viche	**6**	0	0	1	0	0	0	2
B.- Cube	0	**2**	0	0	0	0	0	0
C.- Chura	0	0	**0**	0	0	0	0	1
D.- Rosa Zarate	0	0	0	**1**	0	0	0	0
E.- Malimpia	0	1	0	0	**0**	0	0	0
F. Esm+Mul+Ata.	2	0	0	3	0	**10**	0	0
G.- Eloy+ S.Lor.	0	0	0	0	0	2	**3**	2
H. Exterior	1	1	0	0	1	2	0	**4**

Tabla E.7.- *Matriz de migración según el lugar de nacimiento del individuo y del padre.*

Individuo Padre	A	B	C	D	E	F	G	H
A.- Viche	**10**	0	1	0	1	5	1	4
B.- Cube	0	**2**	0	1	0	0	0	0
C.- Chura	0	0	**1**	0	0	0	3	0
D.- Rosa Zarate	0	0	0	**0**	0	1	0	1
E.- Malimpia	0	0	0	0	**1**	0	0	1
F.- Esm+Mui+Ata.	0	0	0	0	0	**11**	2	3
G.- Eloy+ S.Lor.	0	0	0	0	0	0	**2**	0
H.- Exterior	0	0	0	0	0	0	0	**2**

Tabla E.7.- *Matriz de migración según el lugar de nacimiento del individuo y de la madre.*

Individuo Madre	A	B	C	D	E	F	G	H
A.- Viche	**11**	1	0	1	0	4	1	3
B.- Cube	0	**3**	0	1	0	1	0	0
C.- Chura	0	0	**1**	0	0	1	0	2
D.- Rosa Zarate	0	0	0	**1**	1	0	0	0
E.- Malimpia	0	0	0	0	**0**	1	0	3
F.- Esm+Mui+Ata	1	1	0	2	0	**12**	0	1
G.- Eloy+ S.Lor.	0	0	0	0	0	1	**2**	0
H.- Exterior	0	0	0	0	0	0	0	**0**

Las filas y las columnas corresponden a las 5 parroquias del cantón Quininde, y las tres restantes, una a los cantones de Esmeraldas, Muisne y Atacames, otra a los cantones de San Lorenzo y Eloy Alfaro, y la última, los individuos que proceden de otras provincias de Ecuador o Colombia. Es de reseñar que el aporte de individuos procedentes del vecino cantón de Esmeraldas, limítrofe con Viche, resulta ser importante, no sólo respecto a los progenitores, sino a los mismos individuos estudiados (76% en la de padre e individuo, 68% en la de madre e individuo y 64% en la de padre y madre).

A partir de estas tres matrices se ha elaborado la matriz de progenitores /

descendientes (tabla E.51.), en donde aparecen solamente las casillas de las parroquias del cantón de Quininde, y tan sólo una columna, que incluye la procedencia de los progenitores del exterior, donde se incluyen otros cantones, tras provincias o Colombia.

Tabla E.51.- *Matriz de migración según el lugar de nacimiento de los progenitores y de la descendencia.*

Descend. Progeni.	A	B	C	D	E	Migr.
A.- Viche	**21**	1	1	1	1	18
B.- Cube	0	**5**	0	2	0	1
C.- Chura	0	0	**2**	0	0	6
D.- Rosa Zarate	0	0	0	**1**	1	2
E.- Malimpia	0	0	0	0	1	5

Aunque el tamaño de la muestra analizada es reducida cabe destacar que, de nuevo, es la diagonal principal la mejor representada (40,5%) y, además, la columna de progenitores procedentes del exterior constituye un 43,2% del total.

Las distancias kilométricas entre las distintas parroquias del cantón se han calculado en línea recta, y figuran en la tabla E.52.

Tabla E.52.- *Distancias en kilómetros entre las distintas parroquias del cantón de Quininde.*

	A	B	C	D	E
A.- Viche	0				
B.- Cube	13	0			
C.- Chura	9	17	0		
D.- Rosa Zarate	39	35	30	0	
E.- Malimpia	31	31	20	11	0

A partir del Censo de Población de la Provincia de Esmeraldas, de 1991, se han calculado los tamaños efectivos de población para las distintas parroquias (Tabla E.53.).

Tabla E.53.- *Censos de población en las distintas parroquias, porcentaje de individuos negros y censo efectivo.*

	CENSO DE POBLACION	*20% POB. NEGRA*	*TAMAÑO EFECTIVO*
Viche	3026	605	202
Cube	6807	1361	454
Chura	3400	680	227
Rosa Zarate	38269	7654	2551
Malimpia	11178	2236	745

Los **valores de Fst** son:

Fst = 0,00016

Fst esperado = 0,00016

La concordancia entre el valor de Fst y el calculado en condiciones de panmixia podría indicar que el flujo génico hacia esta comunidad es importante, por lo tanto, no se puede considerar como una "población en sentido estricto", dado que no se encuentra aislada de las que la rodean. Esta consideración, también se puede corroborar en las matrices E.49. y E.50. de la procedencia de los padres, donde se observa, que buena parte de ellos proceden del cantón vecino de Esmeraldas. No obstante, cabe por señalar que el tamaño de la muestra es muy pequeño y el margen de error muy amplio. En este caso los datos genéticos, de nuevo, se ven corroborados por lo resultados obtenidos a partir de las matrices de

migración ya que, por ejemplo, las estimaciones del grado de mestizaje indican un elevado componente indígena, y por tanto la exogamia de la comunidad.

En la Tabla E.54. aparecen los valores de las coordenadas genéticas y geográficas .

Tabla E.54.- *Coordenadas genéticas y geográficas de las parroquias del cantón de Eloy Alfaro.*

	GENETICAS		*GEOGRAFICAS*	
	ABSCISAS	*ORDENADAS*	*ABSCISAS*	*ORDENADAS*
Viche	2,065	0,665	0,284	1,416
Cube	-1,985	0,701	-0,866	1,114
Chura	0,009	-0,847	0,578	0,555
Rosa Zarate	0,077	-0,292	-0,411	-0,843
Malimpia	-0,013	-0,227	0,415	-1,241

En la Figura E.34. se observa la distribución topológica del parentesco mediante el MDS, que muestra como las parroquias de Viche y Cube se encuentran relativamente aisladas entre sí y del resto de las parroquias, tanto geograficamente como geneticamente. Por otra parte, las otras tres parroquias que se encuentran distantes geograficamente, presentan un importante intercambio genético, quedando la cabeza cantonal de Rosa Zarate (Quininde), como polo de atracción de la migración.

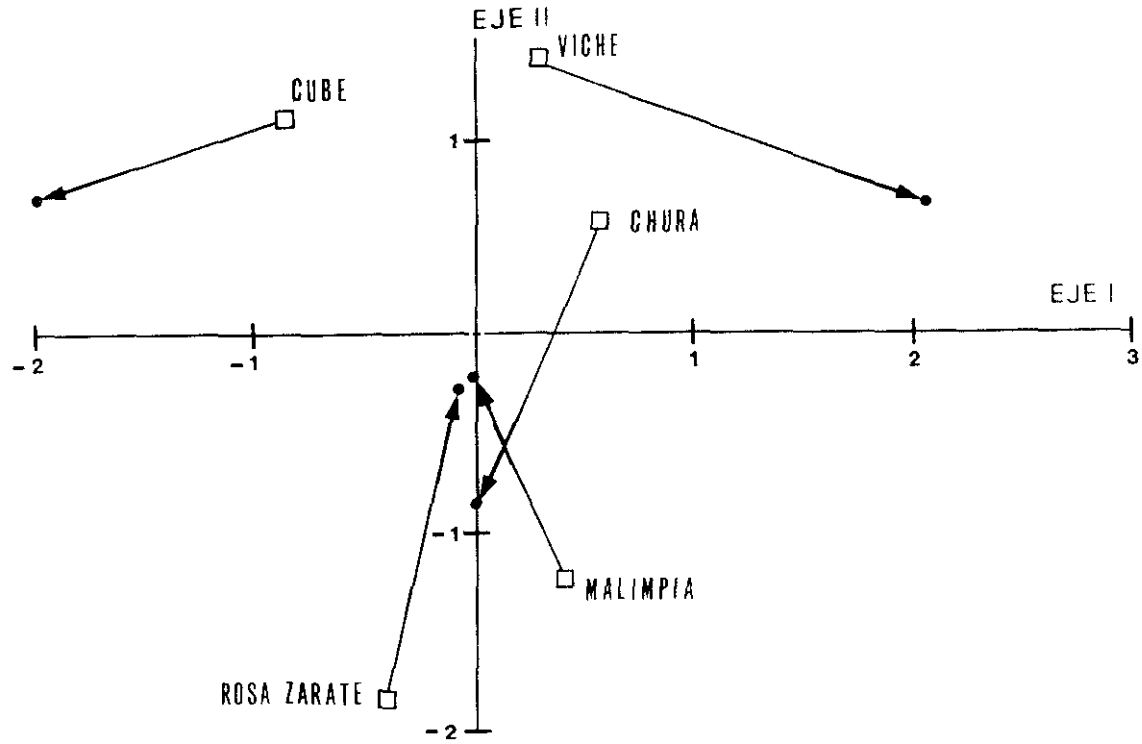


Fig. E.34. *Distribución topológica de las parroquias del cantón de Quininde.*

E.3.3. COMPARACION ENTRE LAS DOS COMUNIDADES ANALIZADAS

Al comparar ambas comunidades podemos observar que:

- Tienen un patrón matrimonial muy diferente. La comunidad de Rio Cayapas sÓlo presenta parejas puras entre negros o entre indios, mientras que en Viche aparecen un amplio grupo de individuos mixtos, lo cual ya se había puesto de manifiesto al calcular el grado de mestizaje de ambas comunidades.

- Por el análisis de apellidos, se observa como en Rio Cayapas existe poca variedad de apellidos, los cuales presentan una frecuencia elevada, y que, en su mayoría, son de origen colombiano. En Viche existe una mayor heterogeneidad, y, en una proporción bastante alta, son apellidos con origen diverso.

- A partir de las matrices de migración se observa como Viche es más

exógama que la comunidad de Rio Cayapas, ya que un elevado número de progenitores proceden de otro cantón, que es el limítrofe de Esmeraldas.

- Al comparar el valor de Fst obtenido a partir de las matrices de migración, se observa que en Viche es mucho más bajo respecto del de Rio Cayapas. a su vez, si se comparan con los valores de Fst obtenidos bajo condiciones de panmixia, se observa que en Viche coinciden, mientras que en Rio Cayapas es cien veces menor, indicando un mayor aislamiento de esta comunidad respecto a Viche. Si se relacionan dichos valores con los calculados para otras poblaciones humanas (Tabla E.55.), se puede observar que los valores de Fst son más bajos cuanto más primitiva es la población, y en estudios llevados a cabo durante un periodo de tiempo en varias generaciones, se encuentra que en épocas más antiguas existen valores de Fst más altos (Jorde, 1980). Se puede, por tanto, concluir, que la comunidad de Viche es una comunidad más abierta y menos "primitiva" respecto a Rio Cayapas. Este resultado confirma la información histórica referente al origen de estas comunidades, en el sentido de que Viche es una localidad incialmente formada por ladinos, a la que llegaron, aproximadamente, hace 40 años, grupos negros que se han mezclado en gran medida con la población allí existente. En cambio, Rio Cayapas está formada por grupos negros que allí se establecieron desde los comienzos de la llegada de esclavos a América, y allí se han mantenido relativamente aislados hasta la actualidad.

Tabla E.55.- *Valores de F_{st} a partir de matrices de migración para distintas poblaciones (tomados de Jorde, 1980).*

Fst	*N° sub.*	*Población*	*Referencia Bibliográfica*
0,0358	10	Indios Papago, 1900	Workman et al., 1973
0,0027	10	Indios Papago, 1959	" "
0,0077	10	Indios Papago, 1900-60	" "
0,0324	5	Juang (tr. avanzada India)	Ray, 1975
0,0045	16	Juang (primitiva India)	" "
0,0045	9	!Kung	Harpending y Jenkins, 1974
0,0492	15	Bougainville (N.Zelanda)	Friedtaender, 1975
0,0116	-	Valle de Parma	Cavalli-Sforza, 1958, 1963
0,0109	-	Islas Aland, 1750	Mielke et al., 1976
0,0008	-	Islas Aland, 1950	" "
0,0048	11	Islas Aland, pre-1900	" "
0,015	-	Pigmeos	Cavalli-Sforza, 1969
0,013	6	Pueblos mayas (Guatemala)	Cavalli-Sforza y Bodmer, 1971
0,0004	9	Islandia, 1900	Jorde, 1980
0,0004	12	Massachusetts, 1790-1809	Swedlund y Mielke, cit. Jorde, 1980
0,0003	12	Massachusetts, 1810-1829	" " " "
0,0002	12	Massachusetts, 1830-1849	" " " "

- Por último, cabe indicar que, al comparar las coordenadas geográficas y genéticas en ambas comunidades, se observa que para Viche están mucho más alejadas, mientras que en el caso de Rio Cayapas están muy próximas, incidiendo de nuevo en el grado de aislamiento de dicha comunidad, si bien es evidente la comunicación a lo largo del rio entre las distintas parroquias.

F. RESUMEN Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha estudiado la **estructura genética de las comunidades afro-americanas de Rio Cayapas y Viche (Provincia de Esmeraldas, Noroeste de Ecuador)**. Para ello, inicialmente, se ha revisado la bibliografía concerniente a la historia, cultura y aspectos sociales de este área.

Para caracterizar estas comunidades se han analizado los **marcadores proteicos ACP1, ADA, AK1, ESD, CA2, GLO1, G6PD, PGD, PGM1, PGM1-IEF, PGM1-Tr/Ts, PGM2 y HBß** en 255 individuos. Las frecuencias alélicas de estos sistemas han definido a cada una de estas comunidades, lo cual ha servido de base para compararlas entre sí y con el conjunto de las otras comunidades afro-americanas. Asi mismo, se han relacionado con series representativas de población africana, española y con una muestra de indios Cayapas, residentes estos últimos, en el mismo área de distribución.

Se ha analizado mediante un **test de χ^2 la heterogeneidad** entre ambas comunidades afro-americanas de Ecuador y, a través del cálculo de **Fst de Wright,** el grado de heterogeneidad genética en el conjunto de las comunidades afro-americanas, a partir de alelos considerados como selectivamente neutros.

En un segundo nivel, considerando en conjunto el total de los marcadores y poblaciones, se han llevado a cabo una serie de **análisis multivariados (analisis de correspondencias y distancias genéticas).** Los resultados de estos análisis nos han llevado a la consideración de que las comunidades afro-americanas son muy distintas de las poblaciones indígenas de América y de la parental española, pero muy relacionadas con la población parental africana. En el caso de las comunidades

de Ecuador, analizadas en este estudio, Viche siempre presenta mayor similitud con las otras comunidades afro-americanas, en particular, con Bluefields (Nicaragua), Curiepe (Venezuela) o Estados Unidos, mientras que la comunidad afro-esmeraldeña de Rio Cayapas, dentro del rango de variación de estas comunidades, se destaca, sobre todo, por la elevada frecuencia de HBß*C (13,4% frente al 0-5% que es el intervalo encontrado para las otras comunidades afro-americanas).

Para cuantificar las relaciones con las poblaciones parentales y valorar su aporte al "pool" génico de las dos comundiades afro-esmeraldeñas, se ha hecho una **estima del mestizaje** dando como resultado que ambas comunidades tienen un gran porcentaje de componente africano (76 en Rio Cayapas y 61% en Viche), si bien difieren fundamentalmente, en la proporción de componente indígena, que en Viche es del 30% frente a un 14% para Rio Cayapas.

El aporte de genes indígenas en estas comunidades afro-americanas, también se ha estudiado por un marcador del **DNA mitocondrial, la delección de la región V**. Su presencia es típica en ciertas poblaciones de Asia y, en algunas descendientes de estas, como son los indígenas americanos. La frecuencia de dicha delección ha corroborado el dato del mestizaje, con una frecuencia mucho mayor en Viche (22,2%) que en Rio Cayapas (3,6%). Este marcador, de transmisión materna, ha permitido concluir que en alguna época de la historia de estas comunidades, mujeres indígenas han introducido su "pool" génico en las comunidades afro-americanas aspecto que se vé confirmado por los datos históricos.

Paralelamente, a partir de la información biodemográfica, el análisis de ambas comunidades ha aportado datos muy útiles y acordes con lo obtenido a través del análisis genético, cuya interpretación resulta así muy favorecida.

La comunidad de Viche presenta un **patrón matrimonial** más abierto respecto a la comunidad de Rio Cayapas: así, en la primera, los cruzamientos no suceden unicamente entre individuos de un mismo grupo, sino que se originan parejas mixtas dando lugar a mestizos, mulatos y ladinos, que en Rio Cayapas no aparecen. Aspectos culturales e históricos inciden en estos patrones.

El **análisis de los apellidos** refleja que en Rio Cayapas aparecen en gran proporción los apellidos de origen colombiano, mientras que en Viche son menos abundantes y existen una serie de ellos que en la primera comunidad no aparecen.

Las **matrices de migración y el cálculo de Fst** a partir de datos biodemográficos han puesto de manifiesto que Rio Cayapas presenta pocos individuos procedentes del exterior del cantón, mientras que en Viche se dan con cierta frecuencia, como resultado la primera aparece como una comunidad muy endógama y aislada, frente a una población abierta y con mucha exogamia, como es Viche. Estos resultados de nuevo confirman los datos genéticos e históricos.

A partir de estos resultados, se puede CONCLUIR:

1) Ambas comunidades afro-esmeraldeñas de Ecuador se incluyen dentro del rango de variabilidad de las comunidades afro-americanas, respecto a los caracteres proteicos aquí considerados.

2) Viche y Rio Cayapas, próximas geograficamente, resultan relativamente

distintas desde el punto de vista de su estructura genética.

3) Hay una serie de alelos proteicos que evidencian la introducción de genes desde las distintas poblaciones parentales como son el CA2*2, HBß*S, HBß*C, G6PD*A, G6PD*A-, PGM2*2 (marcadores negroides) y ADA*2, AK1*2, PGM1*Ts (marcadores caucasoides).

4) En ambas comunidades ha existido un aporte indígena, aunque en distinto grado, lo cual complementa los datos culturales e históricos.

5) De dicho aporte indígena, sabemos con seguridad, que en parte han sido mujeres, porque queda reflejado en el análisis de la delección de la región V del DNA mitocodrial.

6) Los datos de marcadores nucleares, que han permitido el cálculo del mestizaje, son acordes con la frecuencia de la delección de la región V del DNA mitocondrial.

7) La inclusión o no de marcadores influidos por la selección, como son la HBß y la G6PD, no alteran el patrón general de relaciones genéticas de las poblaciones en los análisis multivariados.

8) Las matrices de migración arrojan información acerca del grado de aislamiento de estas comunidades y aparece claramente en Rio Cayapas un mayor grado de endogamia respecto a Viche.

9) El análisis de apellidos permite conocer el origen de estos, así como la introducción de nuevos individuos en el "pool" génico de la población procedentes de otros lugares y grupos.

10) La comunidad de Rio Cayapas, dispersa a lo largo del rio, se ha originado antes que Viche, en parte, resultado de las migraciones desde Colombia, quedando

G. BIBLIOGRAFIA

relativamente aislada.

11) La comunidad de Viche, con un origen posterior, corresponde a una localidad de Esmeraldas, inicialmente poblada por ladinos, y ha recibido gran cantidad de migrantes que la han hecho ampliar su "pool" génico.

Por tanto, con esta investigación se ha puesto de manifiesto una vez más que el estudio de los marcadores proteicos y de segmentos del DNA caracterizan en gran medida a las poblaciones. Estos datos, junto a los biodemográficos, aportan una información muy valiosa y de gran utilidad para reconstruir la historia evolutiva de las poblaciones.

Las comunidades de Rio Cayapas y Viche, en Ecuador, al igual que otras comunidades afro-americanas, presentan una serie de características que hacen difícil su supervivencia, debido a su aislamiento científico y tecnológico, o bien a su elevado mestizaje. Así, se hace necesario su estudio inmediato para aportar nueva información sobre la diversidad humana actual y contribuir al conocimiento de la historia evolutiva de nuestra especie.

ADAMS, J.G., y COLEMAN, M.B., (1990). Structural hemoglobin variants that produce the phenotype of Thalassemia. *Seminars in Hematology*, 27: 229-238.

AFONSO, J.M., HERNANDEZ, M., LARRUGA, J.M., CABRERA, V.M., y GONZALEZ, A.M., (1989). Human enzyme polymorphism in the Canary Islands. III. Tenerife Island population. *Hum. Biol.,* 61: 543-549.

AJMAR, F., SCHARRER, B., MASHIMOTO, F., y CARSON, P.E. (1968). Interrelation of stromal NAD(P)ase and human erythrocyte 6-phosphogluconate dehydrogenase. *Proc. Natl. Sci. USA.* 59: 538.

ALCINA FRANCH, J. (1976). El problema de las poblaciones negroides de Esmeraldas, Ecuador. *Anuario de Estudios Americanos.* vol. XXXI. pp: 33-46.

ALCINA FRANCH, J., (1979). *La arqueología de Esmeraldas.* Memorias de la Misión Arqueológica Española en el Ecuador. vol I. Ministerio de Asuntos Exteriores. Madrid.

ALCINA FRANCH, J. y PEÑA, R. (1980). Etnias y culturas en el área de Esmeraldas durante el periodo colonial español. *Actas del I Congreso Español de Antropología.* vol II. pp: 327-341.

ALCINA FRANCH, J., ALONSO SAGASETA, A., FRANÇOIS BOUCHARDS, J. y GUINEA BUENO, M. (1987). Navegación precolombina: el caso del litoral pacífico ecuatorial: evidencias e hipótesis. *Revista Española de Antropología Americana.* nº XVII. pp:35-73.

ALEXANDER, R.S., KIEFER, L.L., FIERKE, C.A., y CHRISTIANSON, D.W., (1993).

Engineering the zinc binding site of human carbonic anhydrase II: structure of the His 94--> Cys apoenzyme in a new crystalline form. *Biochemistry.* 32: 1510-1518.

ALLISON, A.C., (1954). Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Brit. Med. J.,* 1: 290-294. (Citado en Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

ALLISON, A.C., (1964). Polymorphism and natural selection in human populations. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.,* 29: 137-149. (Citado en Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

ALUJA, M.P., MALGOSA, A., ERCILLA, M.G., y FONT, A., (1988). Sistemas polimórficos de la Cerdanya y su relación con los del Pais Vasco. *Munibe,* 6: 189-197.

AMANTE, A., GLORIA-BOTTINI, F., y BOTTINI, E., (1990). Intrauterine growth: association with acid phosphatase genetic polymorphism. *J. Perinat. Med.,* 18: 275-282.

ANDERSON, S., BANKIER, A.T., BARRELL, B.G., DEBRUJIN, M.H.L., COULSON, A.R., DROUIN, J., J., EPERON, I.C., NIERLICH, D.P., ROE, B.A., SANGER, F., SCHREIER, P.H., SMITH, A.J.H., STADON, R., y YOUNG, I.G., (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature,* 290: 457-465.

ANTONARAKIS, S.E., KAZARIAN, H.H., y ORKIN, S.H., (1985). DNA polymorphism abd molecular pathology of the human globin gene clusters. *Hum. Genet.,* 69: 1-14.

APESHIOTIS, F., y BENDER, K., (1986). Evidence that S-formylglutatione hydrolase

and esterease D polymorphisms are identical. *Hum. Genet.* 74: 176-177.

ARENDS, T., GALLANGO, M.L., MULLER, A., GAONZALEZ-MARRERO,M., y PEREZ-BANDEZ, O., (1978). Tapipa: a negroid Venezuelan isolate. In: Meyer, R.J., Olten, C.M., y Abdel-Hameed, F. (Eds.) *Evolutionary models and studies in human diversity.* Mouton. The Hague.

ARLOT-BONNEMAINS, Y., FOUCHEREAU-PERON, M., MOUKHTAR, M.S., BENSON, A.A., y MILHAUD, G., (1985). Calcium regulating hormones modulate carbonic anhydrase II in the human erythrocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 8832-8834.

ARNAUD, J., CONSTANDS, J., SEVIN, J., y SORBARA, M., (1988). Population polimorphism of the GLO1 enzyme identitification of two new variants. *Gene Geography.* 2: 57-64.

ARNAUD, J., VAVRUSA, B., SEVIN, J., y CONSTANS, J., (1989). Human red cell acid phosphatase (ACP1): A new mutant (ACP*KUK) detected by isolectric focusing, kinetics and thermostability and substrate activity. *Hum. Hered.* 39: 288-293.

AUGETO, E., GENE,M., ERCILLA, G., CARRACEDO, A., CASTILLO, R., y CORBELLA, J., (1986). Study of the polymorphic variants of ACP1, PGM1 and GLO in the population of Barcelona. En: Brinkmann, B., y Henningsen K., (Eds.). *Advances in Forensic Haemogenetics I.* Springer Verlag. Berlin. pp: 228-231.

AZEVEDO, E.S., (1970). Adenylate kinase and phosphogluconate dehydrogenase polymorphisms in North-eastern Brazil. *Am. J. Hum. Genet.*, 22: 1-6.

AZEVEDO, E.S., SILVA, K.M.C., BAHIANA, M.C., VITA MUÑIZ, A.M., MASCARENHAS FORTUNA, C.M., y GRAÇAS SANTOS, M.D. (1981). Genetic and anthropological studies in the island of Itaparica, Bahia, Brazil. *Hum. Hered.* 31: 353-357.

BABALOLA, AOG., BEETLESTONE, J.G., y LUZZATTO, L., (1976). Genetic variants of human erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase. *J.Bio.Chem.* 251: 2993.

BALLINGER, S.W., SCHURR, R.G., TORRONI, A., GAN, Y.Y., HODGE, J.A., HASSAN, K., CHEN, K.H., y WALLACE, D.C., (1992). Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient mongoloid migrations. *Genetics*, 130: 139-152.

BARBUJANI, G., (1985). A two step for the heterogeneity of Fst values at different loci. *Hum. Hered.,* 35: 292-295.

BARBUJANI, G., (1991). Whato do languages tell us about Human microevolution?. *TREE,* 6: 151-156.

BARBUJANI, G., y PILASTRO, A., (1993). Genetic evidence on origin and dispersal of human populations speaking languages of the Nostratric macrofamily. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 90: 4670-4673.

BARBUJANI, G., y SOKAL, R., (1990). Zones of sharp genetic change in Europe are also linguistic boundaries. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 87: 1816-1819.

BARK, J.E., HARRIS, H.J., y FIRTH, M., (1976). Typing of the common phosphoglucomutase variants using isoelectric focusing. *J. Forensic. Sci. Soc.,* 16: 115-120.

BARRANTES, R., SMOUSE, P.E., MOHRENSWEISER, H.W., GERSHOWITZ, H.,

AZOFEIFA, J., ARIAS, T.D., y NEEL, J.V., (1990). Microevolution in Lower Central America: Genetic characterization of the Chibcha-speaking groups of Costa Rica and Panama, and a consensus taxonomy based on geentic and linguistic affinity. *Am. J. Hum. Genet.,* 46: 63-84.

BARRETT, S.A., (1925). *The Cayapa Indians of Ecuador.* Indian Notes and Monographs, N. 40. Heye Foundation. New York.

BARTOLUCCI, E. (1983). Los negros de Esmeraldas. *Apertura.* nº 3. pp: 10-19.

BASTIDE, R., (1969). *Las Americas Negras.* Editorial Alianza. Madrid.

BASU, A., NAMBOODIRI, K.K., WEITKAMP, L.R., BRAUN, W.H.M., POLLITZER, W.S., y SPIVEY, M.A., (1976). Morphology, serology, dermatoglyphics and microevolution of some village populations in Haiti, West Indies. *Hum. Biol.,* 48: 245-269.

BATTISTUZZI, G., BIONDI, G., RICKARDS, O., ASTOLFI, P., y DE STEFANO, G.F., (1986). Historical and demographic factors and the genetic structure of an Afroamerican community of Nicaragua. In: Roberts, D.F., y De Stefano, G.F. (Eds.). *Genetic variation and its maintenance.* Cambridge University Press. Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne, Ssydeney. pp: 181-190.

BATTISTUZZI, G., IUDICONE, P., SANTOLAMAZZA, P., y PETRUCCI, R., (1981). Activity of adenosine deaminase allelic forms in intact erythrocytes and in limphocytes. *Ann. Hum. Genet.,* 45: 15-19.

BAYOUMI, R.A., OMER, A., SAMUEL, A.P.W., SAHA, N., SEBAI, Z.A., y SABAA, H.M.A., (1979). Haemoglobin and erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase variants among selected tribes in Western Saudi Arabia.

Trop. Geogr. Med., 31: 245-252. (Citado en Luzzatto y Battistuzzi, 1984).

BECKER, P.E., (1980). *Genética Humana.* Tomo I/3. Editorial Toray, S.A. Barcelona.

BECKMAN, G., 1978). Enzyme polymorphim. En: Brock, Mayo (Eds.) *The biochemical genetics on man.* Academic Press. New York. pp: 185-269.

BENDER, K., y FRANK, R., (1974). Esterase D-Polymorphismus: Darstellung in der Hochspannungselektrophorese und mitteilung von allelhaufigkeiten. *Humangenetik* 23: 315-318.

BENDER, K., y GRZESCHIK, K.M., (1976). Possible assignment of the glyoxalase I (GLO) gene to chromosome 6 using man-mouse somatic cell hybrids. *Hum. Genet.*, 31: 341-345.

BENITEZ, L. y GARCES, A. (1989). *Culturas Ecuatorianas ayer y hoy.* Ediciones Abya-Yala. Quito.

BENKMANN, H.G., PAIK, Y.K., CHEN, L.Z., y GOEDDE, H.W.., (1986). Polymorphism of 6-PGD in South Korea: a new genetic variant 6-PGD Korea. *Hum. Genet.*, 74: 204-205.

BENZECRI, J.P., (1973). *L'analyse des données, tome II: L'analyse des correspondances.* Dunod. Paris.

BERETTA, M., SCHILIRO, G., RUSSO, A., BARBUJANI, G., MAZZETTI, P., RUSSO, G., y BARRAI, I., (1983). A new rare variant of the glyoxalase I system of the red cell: GLO-sicily. *Am. J. Hum. Genet.* 35: 1042-1047.

BERG, K., CLEVE, M., HOFMAN, G., SCHWARZFISCHER, F., WEND, G.G., y WISCHERATH, H., (1975). ADA^{7}-A new allele. *Vox Sang.*, 29: 217-220.

BERG, K., SCHWARZFISCHER, F., y WISCHERATH, H., (1976). Esterase D

polymorphism: Descrption of the new allele ESD4. *Hum. Genet.* 32: 81-83.

BERNSTEIN, S.C., BOWMAN, J.E., y NOCHE, L.K., (1980). Population studies in Cameron. Hemoglobin S, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and Falciparum malaria. *Hum. Hered.*, 30: 251-258.

BERTRAMSS, J., HITZEN, V., y BARBERAN, F., (1986). A new partially deficient variant in the phosphoglucomutase 1 system, PGM1*W31. *Hum. Genet.*, 72: 177-178.

BERTRANPETIT, J., y CAVALLI-SFORZA, L.L., (1991). A genetic reconstruction of the history of the population of the Iberian Peninsula. *Ann. Hum. Genet.*, 55: 51-67.

BETKE, K., BREWER, G.J., KIRKMAN, H.N., LUZZATTO, L., MOTULSKY, A.G., RAMOT, B., y SINISCALCO, M., (1967). *Standarization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogense: report of a WHO Scientific Group.* World Health Organization Technical Report Series 366.

BEUTLER, E., (1983). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: *The metabolic basis of inherited disease.* Mc. Graw-Hill. New York. 5th Edición. pp: 1629.

BEUTLER, E., y YOSHIDA, A., (1973). Human glucose-6-phosphate dehydrogenase variants: a supplementary tabulation. *Ann. Hum. Genet.* 37: 151-155.

BIANCO SILVESTRONI, I., (1992). *Microcitemie e anemia mediterranea.* Editorial Today. Catania.

BIENZLE, V.,, OKOYE, V.C.N., y GÖGLER, H., (1972). Haemoglobin and Glucose-6-P dehydrogenase variants: distribution in relation to malaria endemicity in a Togolese population. *Z. Tropenmed. Parasit.,* 23: 56-62 (Citado en Tills *et*

al., 1983).

BIONDI, G., BATTISTUZZI, G., RICKARDS, O., y DE STEFANO, G.F., (1987). The Afroamerican community of Bluefields (Nicaragua): an historical, epidemiological and demographycal survey. *Rivista di Antropologia.*, LXV: 149-174.

BIONDI, G., BATTISTUZZI, G., RICKARDS, O., CARLI, A., y DE STEFANO, G.F., (1988). Migration pattern and genetic marker distribtuion of the Afro-american population of Bluefields, Nicaragua. *Ann. Hum. Biol.*, 15: 399-412.

BIONDI, G., DE STEFANO, G.F., RICKARDS, O., CAPUCCI, E., PURPURA, M., MARIANI, M., MOTTOLA, L., GUIDI, A.M., CARLI, A., y BATTISTUZZI, G., (1982-83). Il polimorfismo dei gruppi sanguini ABO, Duffy, MNSs ed Rh in un campione della popolazione di Bluefields, Nicaragua. *Rivista di Antropologia.* LXII: 345-354.

BIONDI, G., FUCIARELLI, M., RICKARDS, O., SPEDINI, G., y TERRENATO, G., (1983). Population genetics of red cell and serum markers in the four Albanian communities of Molise, Italy. *Anthrop. Anz.*, 41: 47-52.

BIONDI, G., RICKARDS, O., MARTINEZ-LABARGA, C., y CIMINELLI, B., (1993). Genetic variability in a population of Benin: The Berba. (En preparación).

BIONDI, G., SFARA, C., VECCHI, F., y CRESTA, M., (1989). Indagine antropologica sui Berba del Benin: tipi di emoglobina e malaria in un'area mesoendemica. *Rivista di Antropologia,* LXVII: 59-72.

BISSBORT, S., HITZEROTH, H.W., VAN DEN BERG, C.T., y WIENKEN, T.F., (1987). Linkage relationship between the genes for adenosine deaminase and S-adenosyl-homocysteine hydrolase on human chromosome 20. *Hum.*

Genet., 77: 277-279.

BISSBORT, S., RITTER, H., y KÖMF, J., (1978). PGM1 subtyping by means of acid starch gel electrophoresis. *Hum. Genet.*, 45: 175-177.

BLACK, F.L., SANTOS, S.E.B., SALZANO, F.M., CALLEGARI-JACQUES, S.M., WEIMER, T.A., FRANCO, M.H.L.P., HUTZ, M.H., RIEGER, T.T., KUBO, R.R., MESTRINER, M.A., y PANDEY, J.P., (1988). Genetic variation within the Tupi linguistic group: new data on three Amazonian tribes. *Ann. Hum. Biol.*, 15: 337-351.

BLAKE, N.M., (1978). Genetic variants of carbonic anhydrase in the Asian-Pacific area. *Annals of Human Biology.* 5: 557-568.

BLAKE, N.M., y KIRK, R.L., (1969). New genetic variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase in Australian aborigenes. *Nature* 221: 278.

BLAKE, N.M., KIRK, R.L., y THOMPSON, J.M., (1973). Expression of human red cell acid phosphatase activity in placenta and other tissues. *Jap. J. Hum. Genet.* 18: 10.

BLAKE, N.M., y OMOTO, K., (1975). Phosphoglucmutase types in the Asian Pacific area: a critical review including new phenotypes. *Ann. Hum. Genet.*, 38: 251-273.

BLAKE, N.M., SAHA, N., MC DERMIT, y KIRK, R., (1974). Additional electrophoretic variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase. *Humangenetik* 21: 347.

BOARD, P.G., (1980). Genetic polymorphism of human erythrocyte glyoxalase II. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 690-694.

BOARD, P.G., y COGGAN, M., (1986). Genetic heterogeneity of S-formyl-

glutathione hydrolase. *Ann. Hum. Genet.* 50: 35-39.

BONSIGNORE, A., CANCEDDA, R., NICOLINI, A., DAMIANI, G., y DE FLORA, A., (1971). Metabolism of human erythrocyte Glucose-6-phosphate dehydrogenase. 6. Interconversio of multiple molecular forms. *Arch. Biochem. Biophis.* 147: 493.

BORTOLINI, M.C., WEIMER, T.A., FRANCO, M.H.L.P., SALZANO, F.M., LAYRISSE, Z., SCHNEIDER, H., SCHNEIDER, M.P.C., y HARADA, M.L., (1992). Genetic studies in three south American Black populations. *Gen. Geograph.* 6: 1-16.

BOULOUX, C., GOMILA, J., y LANGANEY, A., (1972). Hemotypology of the Bedik. *Hum. Biol.* 44: 289-302

BOWMAN, J., CARSON, P.E., FRISCHER, H., y GARAY, A.L., (1966). Genetic of starch gel electrophoresis variants of human 6-phosphogluconate dehydrogenase population and family studies. *Nature,* 210: 811-813.

BOWMAN, J.E., FISCHER, H., AJMAR, F., CARSON, P.E., y GOWER, M.K., (1967). Population, family and biochemical investigation of human adenilate kinase polymorphism. *Nature.* 214: 1156-1158.

BRACHTEL, R., WALTER, H., BECK, W., y HILLING, M., (1979). Associations between atopic diseases and the polymorphic systems ABO, Kidd, Inv and red cell acid phosphatase. *Hum. Genet.,* 49: 337-348.

BRINKMAN, B., BRIKMANN, M., y MARTIN, H., (1973). A new allele in red cell adenosine deaminase polymorphism: ADA*0. *Hum. Hered.,* 23: 603-607.

BRINKMAN, B., KCOPS, E., KLOPP, O., y HEINDLE, K., (1972). Inherited partial deficiency of the PGM1*1 gene: biochemical and densitometric studies.

Ann. Hum. Genet., 35: 363-366.

BURDETT, PE.E., y WHITEHEAD, P.H., (1977). The separation of the phenotypes of phosphoglucomutase, erythrocyte acid phosphatase, and some haemoglobin variants by isoelectric focusing. *Anal. Biochem.,* 77: 419-428.

BUSI, B.R., WELLS, L.J., VOLKERS, W.S., EBELI-STRUIJK, A.C., y MEERA-KHAN, P., (1979). Distribution of glyoxalase I (GLO) variants in western Europe and the Indians subcontinent. *Hum. Genet.,* 49: 105-113.

CABELLO BALBOA, M., (1945). Verdadera descripción y relación larga de la provincia y tierra de las Esmeraldas (Reimpresión) En: Miguel Cabello Balboa. *Obras*. vol I. pp: 5-55. Editorial Ecuatorina. Quito. (Citado en Alcina Franch, 1976).

CAEIRO, J.L.B., CARRACEDO, A., y BOAN, F., (1987). Genetic polymorphism of GPT and GLO1 in Galicia (Northwest Spain): A comparative study. *Anthrop. Anz.*, 45: 63-70.

CAEIRO, J.L.B., REY, D., y VARELA, T.A., (1982). Esterase D polymorphism in Galicia. (North-West of Spain). *Hum. Hered.* 32: 147-148.

CALABRO, V., GIACOBBE, A., VALLONE, D., MONTANARO, V., CASCONE, A., FILOSA, S., y BATTISTUZZI, G., (1990). Genetic heterogeneity at the glucose-6-phosphate dehydrogenase locus in southern Italy: a study on a population from the Matera district. *Hum. Genet.* 86: 49-53.

CALAFELL, F., y BERTRANPETIT, J., (1993). A simulation of the genetic history of the Iberian Peninsula. *Current Anthropology.* (en prensa).

CALAFELL, F., y BERTRANPETIT, J., (1993). Principal component analysis of gene frequencies and the origin of the Basques. *Am. J. Hum. Genet.,* (en prensa).

CALDERON, R. (1983). Inbreeding, migration and age at marriage in rural Toledo Spain. *J. Biosoc. Sci.,* 15: 47-57.

CALDERON, R., e IBAÑEZ, V., (1987). Un estudio genético en el Toledo rural. Grupos sanguíneos y distancias genéticas en la comarca natural de la Jara (Toledo). *Sangre,* 32: 689-699.

CANN, R.L., STONEKING, M., y WILSON, A.C., (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature,* 325: 31-36.

CANN, R.L., y WILSON, A.C., (1983). Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics,* 104: 699-711.

CARRACEDO, A., (1982). *Estudio sobre los polimorfismos enzimáticos eritrocitarios en la población gallega. Su aplicación a la investigación biológica de la paternidad.* Tesis Doctoral. Universidad de Santiago. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela.

CARRACEDO, A., y CONCHEIRO, L., (1982). PGM1 subtypes in Galicia (NW Spain). *Hum. Hered.*, 32: 133-135.

CARRACEDO, A., y CONCHEIRO, L., (1983). Enzyme polymorphisms in Galicia (NW Spain). *Hum. Hered.*, 33: 160-162.

CARRACEDO, A., CONCHEIRO, L., RODRIGUEZ-CALVO, M.S., y MONTIEL, M.D., (1987). Plasma protein and red cell enzyme groups in Galicia (North-West Spain). *Z. Rechtsmed.* 98: 133-140.

CARRASCO, E., (1988). *El pueblo Chachi. el jeengume avanza.* Ediciones Abya-Yala. Quito.

CARTER, N.D. (1972). Carbonic Anhydrase II polymorphism in Africa. *Hum. Hered.* 22: 539-541.

CARTER, N.D., WEST, C.M., EMES, E., PARKIN, B., y MARSHALL, W.H., (1979). Phosphoglucomutase polymorphism detected by isoelectric focusing: gene frequencies, evolution and linkage. *Ann. Hum. Biol.,* 6: 221-230.

CASADO, A., (1992). Comunicación personal.

CAVALLI-SFORZA, L.L., (1969). Human diversity. *Proc. XII Intern. Congr. Genetics.* vol 3: 405-416.

CAVALLI-SFORZA, L.L., (1992). Genes, pueblos y lenguas. *Investigación y Ciencia,* 4-11.

CAVALLI-SFORZA, L.L., y BODMER, W.F., (1971). *The genetics of human populations.* Freeman and Co., San Francisco.

CAVALLI-SFORZA, L.L., y BODMER, W.F., (1981). *Genetica de las poblaciones humanas.* Ed. Omega. Barcelona.

CAVALLI-SFORZA, L.L., y EDWARDS, A.W.F., (1967). Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution,* 21: 550-570.

CAVALLI-SFORZA, L.L., MENOZZI, P., y PIAZZA, A., (1993). Demic expansions and human evolution. *Science,* 259: 639-646.

CAVALLI-SFORZA, L.L., y PIAZZA, A., (1993). Human genomic diversity in Europe: A summary of recent research and prospects for the future. *Eur. J. Hum. Genet.,* 1: 3-18.

CHAKRABORTY, R., KAMBOH, H.I., NWANKWO,M., y FERRELL, R.E., (1992). Caucasian genes in American Black. New Data. *Am. J. Hum. Genet.,* 50: 145-155.

CHEN, S.H., SCOTT, C.R., y GIBLETT, E.R., (1974). Adenosine deaminase demonstration of a "silent" gene asociated with combined immunodeficiency

disease. *Am. J. Phys. Genet.,* 26: 103-107.

CHEN, S.H., SCOTT, C.R., GIBLETT, E.R., y LEVIN, A.S., (1978). Adenosine deaminase deficiency: Another family with a "silent" ADA allele and normal ADA activity in two heterozygotes. *Am. J. Hu. Genet.,* 29: 642-644.

CHILDS, B.W., ZINKHAM, E.A., BROWNE, E.L., KIMBRO, E.L., y TORBET, J.V., (1958). A genetic study of a defect in glutathione metabolism of the erythrocyte. *Bull. Johns Hopkins Hosp.,* 102: 21-37 (citado en Kirkman, 1971)

COATES, P.M., MESTRINER, M.A., y HOPKINSON, D.A., (1975). A preliminary genetic interpretation of the esterase isozymes of human tissues. *Ann. Hum. Genet.* 39: 1-20.

COBA ANDRADE, C.A., (1980). El Negro de Esmeraldas. En: *Literatura popular Afroecuatoriana*. Editor Instituto Otavaleño de Antropología. Otávalo.

COBO, W. y FRESCO, A. (1980). Etnohistoria de Ecuador. *I Congreso Español de Antropología. Barcelona.* vol.II. pp: 247-254.

COLINO, F., (1978). *Antígenos eritrocitarios de los grupos sanguíneos en la población española.* Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Madrid.

COLONNA-ROMANO, S., IOLASCON, A., LIPPO, S., PINTO, L., CUTILLO, S., y BATTISTUZZI, G., (1985). Genetic heterogeneity at the glucose-6-phosphate dehydrogenase locus in southern Italy: a study on the population of Naples. *Hum. Genet.* 69: 228-232.

CONCEIÇAO, M.M., SALZANO, F.M., FRANCO, M.H.L.P., WEIMER, T.A., y KRIEGER, H., (1987). Demography, genetics and race admixture in Aracaju, Brazil. *Rev. Brasil. Genet.*, 10: 313-331.

CONOZCA EL ECUADOR: ESMERALDAS. (1987). *Hoy.* nº 8. Ediciones Edimpres, S.A. Quito.

COOPER, D.N., y SCHMIDTKE, J., (1986). Restriction fragment lenght polymorphisms in human genome. In: Roberts, D.F., y De Stefano, G.F., (Eds.). *Genetic variation and its maintenance.* Cambridge University Press. Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney. pp: 57-75.

COWELL, J.K., RUTLAND, P., JAY, M., y HUNGERFORD, J., (1986). Deletions of the esterase D locus from a survey of 200 retinoblatoma patiens. *Hum. Genet.* 72: 164-167.

COWELL, J.K., RUTLAND, P., JAY, M., y HUNGERFORD, J., (1986). Effect of the esterase D pheneotype on its in vitro enzyme activity. *Hum. Genet.* 74: 298-301.

CRAWFORD, M.H., (1983). The anthropological genetics of the Black Caribs (Garifuna) of Central America and the Caribbean. *Yearbook Phys. Anthrop.,* 26: 161-192.

CRAWFORD, M.H., DYKES, D.D., SKRADSKY, K., POLESKY, H.F., (1984). Blood group, serum protein and red cell enzyme polymorphisms and admixture among the Black Caribs and Creoles of Central America and the Caribbean. In: Crawford, M.H., Ed. *Current developments in Anthropological genetics. vol 3. Black Caribs. A case study in Biocultural adaptation.* Plenum Press. New York. pp: 303-333.

CRAWFORD, M.H., GONZALEZ, N.L., SCHANFIELDS, M.S., DYKES, D.D., SKRADSKY,K., POLESKY, H.F., (1981). The Black Caribs (Garifuna) of

Livingston, Guatemala: Genetic markers and admixture estimates. *Hum. Biol.,* 53: 87-103.

CUADRAS, C.M., *Métodos de análisis multivariante.* Editorial Universitaria de Barcelona. Barcelona.

CURTIN, P.D. (1975). *The Atlantic Slave trade: A census.* The University of Wisconsin Press. Wisconsin.

CUZZOCREA, G., D'ALESSIO, G., IPATA, P., LIBONATI, M., y ROTILIO, G., (1984). *Chimica biologica.* Moncuzzi Editore. Bologna.

DAVIDSON, R.G., (1967). Electrophoretic variants of human 6-phosphogluconate dehydrogenase: population and family studies and description of a new variant. *Ann. Hum. Genet.* 30: 355-361.

DAVIDSON, R.G., NITOWSKY, H.M., y CHILDS, B., (1963). Demostration of two populations of cells in the human female heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 50: 481

DE STEFANO, G.F., (1970-71). Ricerche di Antropologia biologica su popolazioni nicaraguensi. Nota I. Introduzione. *Rivista di Antropologia.,* LVII: 205-220.

DE STEFANO, G.F. (1993). Comunicación personal.

DE STEFANO, G.F., y JENKINS MOLIERE, J., (1976). P.T.C. tasting among three Indian groups of Nicaragua. *Am. J. Phys. Anthrop.,* 44: 371-374.

DESTRO-BISOL, G., ADRIANI, A., BRIZIOBELLO, A., y SPEDINI, G., (1987). Further data on the distribution of PGM1 and CA2 polymorphisms among the Subsaharan populations (Central African REpublic and Benin). *Anthrop. Anz.,* 45: 145-152.

DESTRO-BISOL, G., y BATTAGGIA, C., (1988). A report of four different unusual

6-PGD electrotypes in Caucasian and Negro populations. *Hum. Genet.* 78: 294-295.

DESTRO-BISOL, G., BATTAGGIA, C., MACCHIARELLI, R., BAILLY, C., SCOZZARI, M.R., y SPEDINI, G., (1988). A bio-anthropological study on the Bakabas of Cameroon. *Ann. Hum. Biol.,* 19: 185-195.

DESTRO-BISOL, G., BRIZIOBELLO, A., ADRIANI, A., y SPEDINI, G., (1986). Frequencies of the GPX^{T}_{1} (or GPX $^{*2}_{1}$) and CA2*2 alleles in some Congo populations. *Hum. Hered.*, 36: 58-61.

DIAZ, O. (1978). *El negro y el indio en la sociedad ecuatoriana.* Editorial Tercer Mundo. Bogotá.

DISSING, J., y ERICKSEN, B., (1984). Human red cell esterase D polymorphism in Denmark, its use in paternity cases and the description of a new phenotype. *Hum. Hered.* 34: 148-155.

DISSING, J., y KNUDSEN, J.B., (1969). A new red cell adenosine deaminase phenotype in man. *Hum. Hered.,* 19: 375-377.

DISSING, J., y SENSABAUGH, G.F., (1987). Human red cell acid phosphatase (ACP1): Evidence for differencesin the primary structure of the two isoenzymes encoded by the ACP1*B allele. *Bioche. Genet.* 25: 919-927.

DISSING, J., y SENSABAUGH, G.F., (1988). Human red cell acid phosphatase (ACP1): Evidence for differences in the primary structure of the two isoenzymes expressed by each allele. En: Mayr, W.R. (Ed.) *Advances in Forensic Haemogenetics 2.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. pp: 86-91.

DISSING, J., y SVENSMARK, (1976). Human red cell acid phosphatase: Quantitative evidence of a silent gene P°, and a Danish population study.

Hum. Hered., 26: 43-58.

DISSING, J., and SVENSMARK, O., (1990). Human red cell acid phosphatase: purification and properties of the A, B and C isozymes. *Biochim. Biophys. Acta.,* 1041: 232-242.

DOBOSZ, T., (1983). Distribution of red cell enzyme polymorphisms in South West Poland. *Hum. Hered.* 33: 55-57.

DOUGLAS, G.R., MC ALPINE, P.J., y HAMERTON, J.L., (1973). Regional localization of loci for human PGM1 and 6PGD on human chromosome one by use of hybrids of Chinese hamster-human somatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 70: 2737-2740.

DRAGO, G.A., HOPKINSON, D.A., WESTWOOD, S.A., WHITEHOUSE, D.B., (1991). Antigenic analysis of the major human phosphosglucomutase isozymes: PGM1, PGM2, PGM3 and PGM4. *Ann. Hum. Genet.,* 55: 263-271.

DYKES, D.D., COPOULS, B.A., y POLESKY, H.F., (1982). Rotine phenotyping of phosphoglucomutase (PGM1) by thin-layer focusing: Isoelectric points of 14 different variants. *Electrophoresis,* 3: 165-168.

DYKES, D.D., KÜHNL, P., y MARTIN, W., (1985). PGM1 system. Report on the International workshop. Ocotber 10-11, 1983. Munich. West Germany. *Am. J. Hum. Genet.,* 37: 1225-1231.

EDWARDS, A.W.F., (1971). Distances between populations on the basis of gene frequencies. *Biometrics*, 27: 873-881.

EDWARDS, A.W.F., (1974). Distance measures for phylogenetic trees. In: Crow, J.F., y Denniston, C. (Eds.). *Genetic distances.* Plenum Press. New York. pp:

41-43.

EDWARDS, Y.H., HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1971). Adenosine deaminase isozymes in human tissues. *Ann. Hum. Genet.,* 35: 207-219.

EFREN REYES, O., (1967). *Breve historia general del Ecuador.* Tomo I. Editorial Fray Jacobo Ricke. Quito.

EIBERG, H., y MOHR, J., (1986). Identity of the polymorphisms for esterase D and S-formylglutathione hydrolase in red cells. *Hum. Genet.* 74: 174-175.

ERICKSON, E.E., BARTH, H.A., CHAFFEE, F.H., DE CICCO, G., DOMBROWSKI, J.H., FORTENBAUGH, S.G. y ROBERTS, T.D. (1966). *Area Handbook for Ecuador.* D.C. Superintendent of Documents, U.S. Goverment Printing Office. Washington D.C.

ESPINOLA-ARIAS, A., (1984). *Tipificación de los marcadores ESD y ADP en la población autóctona de Granada y en Andalucía oriental.* Tesina de Licenciatura. Facultad de Medicina. Granada.

ESTUPIÑAN TELLO, J., (1977). *Historia de Esmeraldas.* Editorial Gregorio de Portoviejo. Esmeraldas. (citado en Coba Andrade, 1980).

ESTUPIÑAN TELLO, J. (1983). *El Negro en Esmeraldas.* Impreso en Offset "Los Colorados". Santo Domingo de los Colorados.

FAÑANAS, L., MORAL, P., MARTI TUSQUETS, J.L., y BERTRANPETIT, J., (1990). Genetic markers in Schizophrenia: ACP1, ESD, TF and GC polymorphisms. *Hum. Hered.* 40: 136-140.

FARRIS, J.S., (1972). Estimating phylogenetic trees from distance metrics. *Am. Nat.,* 106: 645-668.

FERGUSON-SMITH, M.A., AITKEN, D.A., TURLEAU, C., GROUCHY, J. (1976).

Localisation of the human ABO: Np-1: AK-1 linkage group by regional assignment of AK-1 to 9q34. *Hum. Genet.* 34: 35-43.

FERREL, R.E., BERTIN, T., BARTON, S.A., ROTHAMMER, F., y SCHULL, W.J., (1980). The multinational Andean genetics and health rpogram. IX. Gene frequencies and rare variants of 20 serum proteins and erythrocyte enzyme in the Aymara of Chile. *Am. J. Hum. Genet.,* 32: 92-102.

FERRELL, R.E., BERTIN, T., YOUNG, R., BARTON, S.A., MURILLO, F., SCHULL, W.J., (1978). The Aymara pf Western Bolivia. IV. Gene frequencies for eight blood groups and 19 protein and erythrocyte enzyme systems. *Am. J. Hum. Genet.,* 30: 539-549.

FERRELL, R.E., NUÑEZ, A., BERTIN, T., LABARTHE, D.R., y SCHULL, W.J., (1978). The blacks of Panama: their genetic diversity as assesed by 15 inherited biochemical systems. *Am. J. Phys. Anthrop.*, 48: 269-276.

FERRIS, S.D., WILSON, A.C., y BROWN, W.M., (1981). Evolutionary tree for apes and humans based on cleavage maps of mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 78: 2432-2436.

FIEDLER, H., y PETTENKOFER, H., (1969). Ein "never" phänotyp im isoenzymsystem der phosphoglucomutasen des Meuschen (PGM10) 2. Mitteilung. *Blut,* 18: 358.

FILDES, R.A., y HARRIS, H. (1966). Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature,* 5020: 261-263.

FILDES, R.A., and PARR, C.W., (1963). Human red cell phosphogluconate dehydrogenase. *Nature,* 200: 890-891.

FLATZ, G., y DÜREN, R., (1967). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency

in Spain. *Humangenetik,* 4: 81-83.

FLATZ, G., y XIROTIRIS, N., (1980) Glucosa-6-fosfatodehidrogenasa. En: Becker. Ed. *Genetica Humana.* Ed. Toray. Barcelona.

FOSTER, G. (1960). *Cultura y Conquista: La Herenica española en América.* Editora Universidad Veracruzana. Veracruz.

FRANCO, M.H.L.P., WEIMER, T.A., Y SALZANO, F.M., (1982). Blood polymorphisms and racial admixture in two Brazilian populations. *Am. J. Phys. Anthrop.* 58: 127-132.

FRIEDMAN, M.J., (1979). Oxidant damage mediates variant red cell resistence to malaria. *Nature*, 280: 245.

FRIEDMAN, M.J., y TRAGER, W., (1981). Bioquímica de la resistencia a la malaria. *Investigación y Ciencia,* 56: 98-107.

FUSTER, V., (1983). *Estructura antropogenética de las poblaciones de nueve parroquias del municipio de Los Nogales, Lugo. (1891-1977).* Tesis Doctoral. Edita Universidad Complutense. Madrid.

FUSTER, V., (1986). Relationships bu isonymes and migration pattern in Northewest Spain. *Hum. Biol.,* 58: 391-406.

FUSTER, V., IBAÑEZ, V., MARTIN, J., y MARRODAN, D., (1993). Population characteristics and marital patterns in the Tietar Valley (Spain). *Anthropologie et Prehistoire.,* (en prensa).

GAENSSLEN, R.E., BELL, S.C., y LEE, M.C., (1987). Distributions of genetic markers in United States Populations: I. Blood Group and Secretor systems. *Journal of Forensic Sciences.*, 32: 1016-1058.

GAENSSLEN, R.E., BELL, S.C., y LEE, M.C., (1987). Distributions of genetic

markers in United States Populations: II. Isoenzymes systems. *Journal of Forensic Sciences.*, 32: 1348-1381.

GAMERO-LUCAS, J.L., ROMERO, J.L., VIZCAYA, M.A., y ARUFE, M.I., (1991). Polymorphisms of the enzyme systems galactose-1-phosphate uridyltransferasa (GALT) and esterase D (ESD) in the province of Cadiz, Southern Spain. *J. Forensic. Sci.* 36: 880-885.

GARCIA, S.C., MORAGON, A.C., y LOPEZ-FERNANDEZ, M.E., (1976). Frequency of glutathione reductase, pyruvate kinase and glucose-6-phosphate dehydrogeanse deficiency in a Spanish population. *Hum. Hered.,* 29: 310-313.

GARCIA, M., ESTRADA, M., GUTIERREZ, A., BALLESTER, A., y GONZALEZ, R., (1982). Glyoxalase I polymosphism and racial admixture in the Cuban population. *Hum. Genet.*, 62: 91-92.

GEERDINK, R.A., BARTSTRA, M.A., y HOPKINSON, D.A., (1974). Phosphoglucomutase (PGM2) variants in Trio Indians from Suriname. *Hum. Hered.,* 24: 40.

GHOSH, A.K., (Citado en Tashian *et. al.*, 1980)

GIBBS, W.N., OTLEY, F., y DYER, M., (1972). Distribution of G6PD phenotypes in Jamaica. *Am. J. Hum. Genet.*, 24: 18-23.

GIBLETT, E.R., (1969). *Genetic markers in human blood.* Blackwell Sci. Publ. Oxford.

GIBLETT, E.R., ANDERSON, J.E., COHEN, F., POLLARA, B., y MEUWISSEN, H.J., (1972). Adenosine deaminase deficiency in two patients with several impaired cellular immunity. *Lancet,* II: 1067-1069.

GIBLETT, E.R., y SCOTT, N.M., (1965). Red cell acid phosphatase: racial distribution and report of a new phenotype. *Am. J. Hum. Genet.,* 17: 425-432.

GLASS, B., (1955). On the unlikelihood of significant admixture of genes from the North American indians in the present composition of the Negroes of the United States. *Am. J. Hum. Genet.,* 7: 368-389.

GLASS, B., y LI, C.C., (1953). The dymnamics of racial intermixture -an analysis based on the American Negro. *Am. J. Hum. Genet.,* 5: 1-20.

GLORIA-BOTTINI, F., LUCARELLI,P., AMANTE, A., LUCARINI, N., FINOCCHI, G., BOTTINI, E., (1989). Interaction at clinical level between erythrocyte acid phosphatase and adenosine deaminase genetic polymorphisms. *Hum. Genet.,* 82: 213-215.

GOEDDE, W.H., BENKMAN, H.G., AGARWAL, D.P., BIENZLE, U., GUGGENMOOS, R., ROSENKAIMER, F., HAPPE, H.H., y BRINKMANN, B., (1979). Genetic studies in Cameroon: red cell enzyme and serum protein polymoprhisms. *Z.Morpho.Anthrop.*, 70: 33-40.

GOEDDE, W.H., BENKMAN, H.G., BIENZLE, U., y BIENZLE, H., (1985). Genetic markers in Liberia: Studies of GLO, ACP, ESD, 6PGD, AK, Sub-PGM1 and 2 polymorphisms. *Z.Morph.Anthrop.*, 75: 349-354.

GOEDDE, H.W., HIRTH, L., BENKMANN, H.G., PELLICER, A., PELLICER, T., STAHN, M., y SINGH, S., (1972). Population genetic studies of red cell enzyme polymorphisms in four Spanish populations. *Hum. Hered.* 22: 552-560.

GOEDDE, H.W., ROTHHAMER, F., BENKMANN, H.G., y DOGDANSKI, P., (1985).

Genetic studies in Atacameño Indians: serum protein and red cell enzyme polymorphisms. *Ann. Hum. Biol.,* 12: 251-259.

GOLDEN, V.L., and SENSABAUGH, G.F., (1986). Characterization of the phosphotransferase activity of red cell acid phosphatase (ACP1). En: Brinkmann, B. and Henningsen, K. (Eds.) *Advances in Forensic Haemogenetics 1*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 123-126.

GOLIAS, T.L., (1971). *Helena laboratories electrophoresis manual.* Helena Laboratories. Beaumont.

GONZALEZ SUAREZ, F., (1970). *Historia General de la República del Ecuador.* Editorial Casa de la Cultura Ecuatoriana. Quito. (Citado en Coba Andrade, 1980).

GONZALEZ,R., BALLESTER, J.M., ESTRADA, M., LIMA, F., MARTINEZ, G., WADE, M., COLOMBI, B. y VENTO, R., (1976). A study of the genetical structure of the Cuban population: red cell and serum biochemical markers. *Am. J. Hum. Genet.*, 28: 585-596.

GREENACRE, M., (1984). *Theory and appliation of correspondence analysis.* Academic Press. London.

GORDON, H., KERAAN, M.M., y VOOIJS, M., (1967). Variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase within a community. *Nature* 24: 466-467.

GRADL, G., WEIDINGER, S., CLEVE, H., y SCHWARZFISCHER, F., (1986). Genetic study of red cell esterase D polymorphism by isoelectric focusing. In: *Advances in Forensic Haemogenetics 1.* Brikmann, B., y Henningsen, K., Eds. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

GREENACRE, M., (1984). *Theory and application of Correspondence analysis.*

Academic Press. London.

GREENACRE, M., y DEGOS, L., (1977). Correspondence analysis of HLA gene frequency data from 124 population samples. *Am. J. Hum. Genet.* 29: 60-75.

GREENBERG, J.H., TURNER, C.G., y ZEGURA, S.L., (1986). The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental, and geentic evidence. *Current Anthropology,* 27: 477-497.

GREMO, A., (1988). *Estudio de polimorfismos genéticos en la población madrileña y su aplicación a la investigación biológica de la paternindad.* Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid.

GUDERIAN, R.H., (1993). Comunicación personal.

GUDERIAN, R.H., CRUZ, M., y HERDOIZA, M., (1988). Evolución de los marcadores genéticos asociados con la susceptibilidad genética hacia la malaria en el Ecuador. *Memorias Federación Latinoamericana de Parasitología.,* 481-486.

GUEVARA, A.E.B., CALVOPIÑA, M.H., MACIAS, G.S., y GUDERIAN, R.H., (1991). Deficiencia de glucosa-6-fosfato dehidrogenasa en poblaciones ecuatorianas de raza negra. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.* XXV: 113-119.

GUGLIELMINO MATESSI, C.R., y ZEI, G., (1979). Un metodo di correzione per il calcolo delle frequenze geniche in piccole popolazioni composte da nuclei familiari. *Atti Assoc. Genet. Ital.,* 24: 198-200.

HALDANE, J.B.S. (1949). Disease and evolution. *Ricerca Si.,* 19 (supl. 1): 3-10. (citado en Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

HAMEL, H.L.H., SALZANO, F.M., y FREITAS, M.J.M., (1984). The Gm

polymorphism and racial admixture in six amazonian populations. *J. Hum. Evol.,* 13: 517-529.

HARIHARA, S., HIRAI, M., SUUTOU, Y., SHIMIZU, K., y OMOTO, K., (1992). Frequency of a 9-bp deletion in the mitochondrial DNA among Asian populations. *Hum. Biol.* 64: 161-166.

HARPENDING, H.C., y JENKINS, T., (1974). !Kung population structure. In: Crow, J.F., y Denniston, C.F., (Eds.). *Genetic distances.* Plenum Press. New York. pp: 137-161.

HARRIS, H., (1975) *The principles of human biochemical genetics.* Horth Holland Publishing Company. Amsterdam, Oxford. American Elsevier Publishing Company, Inc. New York. pp: 473.

HARRIS, H., and HOPKINSON, D.A., (1976). *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics.* North Holland Publishing Company. Amsterdam. Elseiver Publishing. New York, Oxford.

HENKE, J., SCHWEITZER, H., BÄR, W., WEIDINGER, S., WEISSMANN, J., y BAUR, M.P., (1986). Extended polymorphism of the human esterase D isozyme system: description of a new allele ESD*11. *Hum. Genet.* 73: 89-90.

HENKE, J., SCHWEITZER, H., CLEVE, H., y WEIDINGER, S., (1986). "New" phenotypes in the human red cell isozyme system ADA. *Z. Rechtsmed.,* 96: 159-161.

HERBICH, J., FISHER, R.A., HOPKINSON, D.A., (1970). Atypical segregation of human red cell acid phosphatase phenotypes: evidence for a rare "silent" allele P*0. *Ann. Hum. Genet.,* 34: 145-151.

HERRER, J., (1978). *La familia en la sociedad afro americana.* Secretariado de Promoción Humana. Vicariato de Esmeraldas.

HERTZBERG, M., MICKLESON, K.N.P., SERJEANSON, S.W., PRIOR, J.F., y TRENT, R.J., (1989). An Asian-specific 9-bp deletion of mitochondrial DNA is frequently found in Polynesians. *Am. J. Hum. Genet.*, 44: 504-510.

HERZOG, P., y LIBICH, M., (1982). A new case of a silent allele in the PGM1 system. *Hum. Hered.,* 32: 293-295.

HIERNAUX, J., (1976). Blood polymorphism freqeuncies in the Sara Majingay of Chad. *Ann. Hum. Biol.,* 3: 127-140.

HIRSCHHORN, R., y ELLENBOGEN, A., (1986). Genetic heterogeneity in adenosine deaminase (ADA) deficiency: five different mutations in five new patients with partial ADA deficiency. *Am. J. Hum. Genet.,* 38: 13-25.

HITZEROTH, H.W., BENDER,K., WOLFSWINKEL, J.M., (1976). Esterase D polymorphism in South African negroids. *S.Afr.J.Sci.* 72: 301-303. (Citado en Dissing *et al.,*, 1984).

HOLLYOAKE, M., PUTT, W., EDWARDS, Y.H., y WHITEHOUSE, D.B., (1992). Two TaqI polymorphisms at the human PGM1 locus. *Human Molecular Genetics,* 1: 354.

HONEY, N.K., y SHOWS, T.B., (1981). Assignment of the Glyoxalase II gene (HAGH) to human chromosome 16. *Hum. Genet.* 58: 358-361.

HONIG, J., MARTINIUK, F., D'EUSTACHIO, P., ZAMFIRESCU, C., DESNIK, R., HIRSCHHORN, K., HIRSCHHORN, L.R., y HIRSCHHORN, R., (1984). Confirmation of the regional localization of the genes for human acid alpha-glucosidase (GAA) and adenosine deaminase (ADA) by somatic cell hybridization. *Ann.*

Hum. Genet., 48: 49-56.

HOPKINSON, D.A., COPPOCK, J.S., MÜHLEMANN, M.F., y EDWARDS, Y.H., (1974). The detection and differentiation of the products of the human carbonic anhydrase loci CAI and CAII using fluorogenic substrates. *Ann. Hum. Genet.* 38: 155-162.

HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1965). Evidence for a second "structural" locus determining human phosphoglucomutase. *Nature,* 208: 410-412.

HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1966). Rare phosphoglucomutase phenotypes. *Ann. Hum. Genet.,* 30: 167-180.

HOPKINSON, D.A., Y HARRIS, H., (1969). The investigation of reactive suphydryles in enzymes and their variants by starch gel electrophoresis. Studies on the red cell adenosine deaminase. *Ann. Hum. Genet.,* 33: 81-87.

HOPKINSON, D.A., MESTRINER, H.A., CORTNER, J., y HARRIS, H., (1973). Esterase D: a new human polymorphism. *Ann. Hum. Genet.,* 37: 119-137.

HOPKINSON, D., SPENCER, N., y HARRIS, H., (1963). Red cell acid phosphatase variants a new human polimorphisms. *Nature* 199: 969-971.

HOPKINSON, D., SPENCER, N., and HARRIS, H., (1964). Genetical studies on human red cell acid phosphatase. *Am. J. Hum. Genet.*, 16: 141-154.

HORAI, S., KONDO, R., NAKAGAWA-HATTORI, Y., HAYASHI, S., SONODA, S., y TAJIMA, K., (1993). Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.*, 10: 23-47.

HORAI, S., y MATSUNAGA, E., (1984). Differential enzyme activities in human Esterase D phenotypes. *Hum. Genet.* 66: 168-170.

HORAI, S., y MATSUNAGA, E., (1986). Mitochondrial DNA polymorphism in

Japanese. II. Analysis with restriction enzymes of four or five pair recognition. *Hum. Genet.,* 72: 105-117.

HSIEH, C.L., y SUTTON, H.E., (1992). Mitochondrial and nuclear variants in a U.S. Black population: origins of a hybrid population. *Ann. Hum. Genet.,* 56: 105-112.

HUCKENBECK, W., BONTE, W., y WEIDINGER, s., (1988). Evidence for a new allele at the Esterase D (E.C.3.1.1.1.) locus. *Hum. Hered.* 38: 378-380.

HUTCHINSON, J., (1986). Relationship between African admixture and blood presure variation in the Caribbean. *Hum. Hered.,* 36: 12-18.

IMAIZUMI, Y., MORTON, N.E., y HARRIS, D.E., (1970). Isolation by distance in artificial populations. *Genetics,* 66: 569-582.

INEC (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA Y CENSOS) (1991). *V Censo de población y IV de vivienda 1990. Provincia de Esmeraldas.* Quito.

INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J., y WHITE, T.J., (1990). *PCR protocols. A guide to methods and applications.* Academic Press. New York.

INVIERTA EN EL ECUADOR. (1992). Banco Central del Ecuador, Ed. Quito.

JAEGER, G., (1974). Etude hemotypologique d'une communauté Sara centrofricaine. *Cah. Anthrop. Ecol. Hum.*, 2: 19-124. (Citado en Tills *et al.,* 1983).

JARA, N.O., GUEVARA ESPINOZA, A., y GUDERIAN, R.H., (1989). Investigación de hemoglobinas anormales en poblaciones ecuatorianas de raza negra. *Sangre.,* 34: 10-13.

JENKINS, T., and CORFIELD, V., (1972). The red cell acid phosphatase polymorphism in Southern Africa: population data and studies on the R, RA

and RB phenotypes. *Ann. Hum. Genet.*, 35: 379-391.

JENKINS, T., LANE, A.B., y NURSE, G.T., (1979). Red cell adenosine deaminase (ADA) polymorphism inSouthern Africa, with special reference to ADA deficiency among the !Kung. *Ann. Hum. Genet.*, 42: 425-433.

JENKINS, T., y NURSE, G.T., (1974). The red cell 6-phosphogluconate dehydrogenase polymorphism in certain Southern African populations, with the first report of a new phenotype. *Ann. Hum. Genet.* 38: 19-29.

JONES, G.L., y SHAW, D.C., (1983). Chemical and enzymological comparison of the common major human erythrocyte carbonic anhydrase II, its minor component, and a new genetic variant, CAII Melbourne (237Pro--His). *Hum. Genet.*, 63: 392-399.

JONES, G.L., SOFRO, A.S.M., y SHAW, D.C., (1982). Chemical and enzymological characterization of an Indonesian variant of human erythrocyte carbonic anhydrase II, CAII Jogjakarta (17Lys--Glu). *Biochemical Genetics*, 20: 979-1000.

JONGSMAN, A., VAN SOMEREN, H., WESTERVELD, A., HAGEMEIJER, A., y PEARSON, P., (1973). Localization of genes on human chromosomes by studies of human-Chinese hamster somatic cell hybrids. Assignment of PGM3 to chromosome C6 and regional mapping of the PGD, PGM1 and PEP-C genes on chromosome A1. *Humangenetik,* 20: 195-202.

JORDE, L.B., (1980). The genetic structure of subdivision human populations. A review. In: Crawford, M.H., y Mielke, J.M., (Eds.). *Current Developments in Anthropological Genetics. vol. I. Theory and methods.* Plenum Press. New York, London.

JORDE, L.B., (1985). Human genetic studies: present status and future prospects. *Ann. Rev. Anthropol.* 14: 343-373.

JUNIEN, C., KAPLAN, J.C., BERNHEIM, A., and BERGER, R., (1979). Regional assignment of red cell acid phosphatase locus to band 2p25. *Hum. Genet.* 48: 17-21.

JURADO NOBOA, F., (1988) Discurso de orden en el Acto solemne de apertura del Congreso de Historia del Negro, Esmeraldas, 14 de Octubre de 1988. En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia de Ecuador y Sur de Colombia.* Ediciones Abya-Yala. Quito. pp: 9-14.

JURADO NOBOA, F., (1992). Esmeraldas en los siglos XVI, XVII, y XVIII. Sus tres afluentes negros coloniales. En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia. Raices africanas en la nacionalidad Ecuatoriana -500 años-.* Ediciones Afroamerica. pp. 31-39.

KAHN, A., BOIVIN, A., y LAGNEAN, J., (1973). Phenotypes de la glucose-6-phosphate dehydrogenase erythrozytaire dans la race noire. Etude de 301 noirs vivant en France et description de 9 variantes differentes. Frequence éleveé d'une enzyme deficitarie de migration "B". *Humangenetik*, 18: 261-270.

KAHN, A., KAPLAN, J.C., y DREYFUS, J.C., (197). Advances in hereditary red cell enzyme anomalies. *Hum. Genet.*, 50: 1-27.

KAMBOH, M.I., y KIRK, R.L., (1983). Investigation on PGM1*3, PGM1*6 and PGM1*7 variants by isoelectric focusing. Evidence for new subtypes of the PGM1*3 and PGM1*7 alleles. *Hum. Genet.*, 64: 58-60.

KAN, Y.W., y DOZY, A.M., (1980). Evolution of the hemoglobin S and C genes in

world populations. *Science,* 209: 388-391.

KARLSSON, S., y NIENHUIS, A.W., (1985). Developmental regulation of human globin genes. *Ann. Rev. Bioche.,* 54: 1071-1108.

KAVATHAS, P., y DEMARS, R., (1981). A new variant Glyoxalase I allele that is readily detectable in stimulated lymphocytes and lymphoblastic cell lines but not in circunlating lymphocytes or erythrocytes. *Am. J. Hum. Genet.* 33: 935-945.

KAY, A.C., KUHL, W., PRCHAL, J., y BEUTLER, E., (1992). The origin of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) polymorphisms in African-Americans. *Am. J. Hum. Genet.* 50: 394-398.

KHOO, J.C., y RUSSELL, P.J., (1972). Isoenzymes of adenylate kinase in human tissue. *Biochim. Biophys. Acta.* 268: 98-101.

KIRKMAN, H.N., (1971). Glucose-6-phosphate dehydrogenase. En: Harris, H., y Hirschhorn, K., *Advances in Human Genetics.* 2: 1-61.

KIRKMAN, H.N., y HENDRICKSON, E.M., (1963). Sex-linked electrophoretic difference in glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Am. J. Hum. Genet.,* 15: 241-258.

KNOX, W.E., (1962). Glutathione. Coenzyme function of GSH. Glyoxalase. *Enzymes.,*2: 271-282.

KÖMPF, J., BISSBORT, S., RITTNER, H., (1975). Red cell glyoxalase I (E.C. 4.4.1.5.) Formal genetics and linkage relations. *Humangenetik,* 28: 249-251.

KOREY, K.A., (1978). A critical appraisal of methods for measuring admixture. *Hum. Biol.,* 50: 343-360.

KOZIOL, P., STEPIEN, J., (1980). Atypical segregation of esterase D: Evidence of

a rare "silent" allele ESD0. *Hum. Genet.* 53: 223-225.

KREDICH, N.M., y HERSCHFIELDS, M.S., (1979). S-adenosylhomocysteine toxicity in normal and adenosine kinase-deficient lymphoblasts of human orgiin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 76: 2450-2454.

KREDICH, N.M., y HERSCHFIELDS, M.S., (1983). Immunodeficiency disease associated with adenosine deaminase deficiency and purine nucleoside phosphorylase deficiency. In: Stanbury, J.B., Wyngaarden J.B., Fredrickson, D.S., Godsteim, J., Y Brown, M. (Eds.). *The metabolic basic of inherited disease*. McGraw Hill. New York.

KRIEGER, H., MORTON, N.E., MI, M.P., AZEVEDO, E., FREIRE-MAIA, A., y YASUDA, N., (1965). Racial admixture in north-eastern Brazil. *Ann. Hum. Genet.*, 29: 113-125.

KREBS, J.F., y FIERKE, C.A., (1993). Determinants of catalytic activity and stability of carbonic anhydrase II as revealed buy random mutagenesis. *J. Biol. Chem.* 268: 948-954.

KRYLOV, M.Y.U., GURBANOV, V.P., MAKAROV, V.V., and BENEVOLENSKAYA, L.I., (1985). Red cell enzyme types in rheumatic diseases. *Hum. Hered.*, 35: 107-110.

KÜHNL, P., y SPIELMANN, W., (1978). Investigation on the PGM1*A polymorphism (phosphoglucomutase, E.C. 2.7.5.1.) by isoelectric focusing. *Hum. Genet.* 43: 57-67.

LAI, L., NEVO, S., and STEINBERG, A.G., (1964). Acid phosphatase of human red cells: predicted phenotype conforms to a genetic hypothesis. *Science* 145: 1187.

LALOUEL, J.M., (1980). Distance analysis and multidimensional scaling. In: Mielke, J.H., y Crawford, M.H., (Eds.). *Current Developments in Anthropological Genetics. vol 1: Theory and methods.* Plenum Press. New York, London. pp: 209-250.

LAPOUMEROULIE, C., DUNDA, O., DUCROCQ, R., TRABUCHET, G., MONY-LOBE, M., BODO, J.M., CARNEVALE, P., LABIE, D., ELION, J., y KRISHNAMOORTHY, R., (1992). A novel sickle cell mutation of yet another origin in Africa: the Cameroon type. *Hum. Genet.,* 89: 333-337.

LASZLO, A., KOSA, F., ZIMANYI, I., y EGYED, A., (1985). Erythrocyte enzyme allotypes in the X-linked recessive disorders, Duchenne muscular dystrophy and haemophilia A hemizygotes and heterozygotes. *Acta PAediatr. Hung.,* 26: 87-96.

LEBART, C., MORINEAU, A., WARWICK, K.W., (1984). *Multivariate descriptive statistical analysis, corrrespondence analysis and related techniques for large matrices.* Wiley. New York.

LEE, W.H., BOOKSTEIN, R., WHEATLEY, W., BENEDICT, W., LEE, EYHP., (1987). A null allele of esterase D is a marker for genetic events in retinoblastoma formation. *Hum. Genet.* 76: 33-36.

LEWONTIN, R.C., (1972). The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.,* 6: 381.

LIN, K.T., y DEUTSCH, H.F., (1972) Human carbonic anhydrases. VIII. Isolation and characterization of a polymorphic form of a C type isozyme. *J. Biol. Chem.* 247: 3761.

LIVINGSTONE, F.B., (1985). *Frequencies of hemoglobin variants, thalassemia, the*

glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency, G6PD variants and ovalocytosis in human populations. Oxford University Press. New York, Oxford.

LOOR VILLAQUIÑAN, M. (1993). Estudio monográfico de la Provincia de Esmeraldas. (No publicado, comunicación personal de Monseñor Enrique Bartolucci).

LOPEZ-LARREA, C., BOOTELLO, A., y ARNAIZ-VILLENA, A., (1981). Linkage of GLO with HLA in a sanple of the Spanish population. *Hum. Genet.*, 57: 317-320.

LOWE, N., EDWARDS, Y.H., EDWARDS, M., y BUTTERWORTH, P.H.W., (1991). Physical mapping of the human carbonic anhydrase gene cluster on chromosome 8. *Genomics*, 10: 882-888

LUCARINI, N., BORGIANI, P., BALLARINI, P., and BOTTINI, E., (1989). Erythrocyte acid phosphatase (ACP1) activity. In vitro modulation by adenosine and inosine and effects of adenosine deaminase (ADA) polymorphism. *Hum. Genet.* 81: 185-187.

LUCOTTE, G., y RUFFIE, J., (1982). Variation electrophoretique et speciation chez les differentes especes de singes anthropoides. *Hum. Genet.* 61: 310-317.

LUFFMAN, J.E., and HARRIS, H., (1967). A comparison of some properties of human red cell acid phosphatse in different phenotypes. *Ann. Hum. Genet.*, 30: 387-401.

LUM, J.K., RICKARDS, O., CHING, C., y CANN, R.L. (1993) Molecular anthropology: understanding human migration into the Pacific and Polynesia. *Hum. Biol.* (submitted).

LUZ, C.M., KÖNIG, I., SCHIRMER, R.H., y FRANK, R., (1990). Human cytosolic adenylate kinase allelozymes; purification and characterization. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1038: 80-84.

LUZZATTO, L., (1973). Studies of polimorphic traits for the characterization of populations: African populations South of the Sahara. *Is. J. Med. Sci.,* 9: 1181-1194. (Citado en Luzzatto y Battistuzzi, 1984).

LUZZATTO, L., (1974). Genetic factors in malaria. *Bull WHO*, 50: 195.

LUZZATTO, L., (1980). Genetic of red cell and susceptibility to malaria. In: Michel, F., Ed. *Modern concepts and techniques in the study of parasites.* Tropical Disease Research Schwabe & Co. Basel. 4: 257.

LUZZATTO, L., y AFOLAYAN, a., (1968). Different types of human erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase, with caracterization of two new genetic variants. *J. Clin. Invest.* 47: 1833.

LUZZATTO, L., y BASTTISTUZZI, G., (1985). Glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: Harris, H., Y Hischhorn, K. *Advances in human genetics.* 4: 217-329.

LUZZATTO, L., y METHA, A., (1989). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. y Valle, D. Eds. *The metabolic basis of inhereted disease II.* Mc Graw Information Services Company. New York, St Louis, San Francisco, Colorado Springs, Auckland, Bogotá, Caracas, Hamburg, Lisbon, Madrid, Mexico, Milan, Montreal, New Delhi, Panama, PAris, San Juan, Sao Paulo, Singapore, Sydney, Tokyo, Toronto. pp: 2237-2265.

LYON, M.F., (1961). Gene action in the X chromosome of the mouse. *Nature,* 190:

372.

MALECOT, G., (1950). Quelques schémas probabilistes sur la variabilité des populations naturelles. *Ann. Univ. Lyon Sci. Sect A.*,13: 37-60. (Citado en Jorde, 1980).

MANIATIS, T., FRITSCH, E.F., LAUER, J., y LAWN, R.M., (1980). The molecular genetics of human hemoglobins. *Ann. Rev. Genet.,* 14: 145-178.

MANSFIELD, E., and SENSABAUGH, G.F., (1978). Red cell acid phosphatase: modulation of activity by purines. En: Brewer, G.F. (Ed.) *The red cell.* Liss, New York. pp: 233-247.

MANZ, R., OEPEN, I., y VOLLMER, M., (1979). Ein seltener typ in adenosindeaminase-polymorphismus: ADA 5-2. *Ärztl. Lab.,* 25: 256-257.

MARCH, R.E., HOLLYOAKE, M., PUTT, W., HOPKINSON, D.A., EDWARDS, Y.H., y WHITEHOUSE, D.B., (1993). Genetic polymorphism in the 3' untranslated region of human phosphoglucomutase-1. *Ann. Hum. Genet.*, 57: 1-8.

MARKS, M.P., JENKINS, T., y NURSE, G.T., (1977). The red cell glutamic-pyruvate transaminase, carbonic anhydrase I and II and esterase D polymorphisms in the Ambo populations of South West Africa, with evidence for the existence of an ESD*0 allele. *Hum. Genet.* 37: 49-54.

MARTELL, M., PADRON, G., HERNANDEZ, M., AFONSO, J.M., y CABRERA, V.M., (1986). Human enzyme polymorphism on the Canary Islands. I. Gran Canaria Island Population. *Hum. Hered.* 36: 41-44.

MARTENSSON, L.G., JONSSON, B.H., ANDERSSON,M., KIHLGREN A., y BERGENHEM, N., (1992). Role of evolutionarily invariant serien for the stability of human carbonic anhydrase II. *Biochim. Biocphys. Acta.,* 1118:

179-186.

MARTINEZ-LABARGA, C., y RICKARDS, O., (1992). Genetic diversity in Benin (West Africa). *VIIIth Congress of the European Anthropological Association.* 7-10 September 1992. Madrid.

MARTINI, G., TONIOLO, D., VULLIAMY, T., LUZZATTO, L., DONO, R., VIGLIETTO, G., PAONESSA, G., D'URSO, M., y PERSICO, M.G., (1986). Structural analysis of the X-linked gene encoding human glucose 6-phosphate dehydrogenase. *The EMBO Journal*, 5: 1849-1855.

MATSON, G.A., SUTTON, H.E., SWANSON, J., ROBINSON, A.R., y SANTIANA, A., (1966). Distribution of heredity blood group among Indians in South America. I. Ecuador. *Am. J. Phys. Anthrop.* 24: 51-70.

MATSUURA, S., IGARASHI, M., TANIZAWA, Y., YAMADA, M., KISHI, F., KAJII, T., FUJII, H., MIWA, S., SAKURAI, M., y NAKAZAWA, A., (1989). human adenylate kinase deficiency associated with hemolytic anemia. *J. Biological Chemistry.* 264: 10148-10155.

MCALPINE, P.J., HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1970). The relative activities attributable to the three phosphoglucomutase loci (PGM1, PGM2 and PGM3) in human tissues. *Ann. Hum. Genet.,* 34: 169-173.

MCALPINE, P.J., MOHANDAS, T., y HAMERTON, J.L., (1975). Isozyme analysis of somatic cell hybrids: Assignment of the phosphoglucomutase 2 (PGM2) gene locus to chromosome 4 inman with data on the molecular structure and human chromosome assignments of six addtional markers. In: *Isozymes, IV: Genetics and Evolution.* Academic Press. New York. pp: 149.

MCLOUGHLIN, K., BLAKE, N.M., y HOGAN, P.F., (1982). Blood group, red cell

enzyme and serum protein types in the Buka islanders, PApua New Guinea. *Hum. Hered.,* 32: 152-159.

MEERA KHAN, P., DOPPERT, B.A., (1976). Rapid detection of glyoxalase I (GLO1) on cellulose acetate and the distribution of the GLO variants in a Duth population. *Hum. Genet.* 34: 53-56.

MELONI, J., (1979). Región Comboniana del Ecuador. *Apertura.* nº 3. pp: 13-23.

MESA, M.S., (1973). Estudio del polimorfismo genético de los sistemas Rh y Kell en la comarca natural de la Mancha. *Trab. Antrop.,* XVI: 245-251.

MESA, M.S., y BERNASOUVSKY, I., (1989). Study of the genetic polymorphism in European Gypsies. *3rd Anthropological Congress "Ales Hrdlicka".* Praga.-Humpolec. Septiembre, 1989.

MESA, M.S., MARTIN, J., FISAC, R., y FUSTER, V., (1992). Anthropological study in the "Sierra de Gredos" Mountainous Central System, Spain. *VIIIth Congress of the European Anthropological Association.* Madrid. Septiembre, 1992.

MIELKE, J.H., WORKMAN, P.L., FELLMAN, J., y ERICKSSON, A.W., (1976). Population structure of the Aland Islands, Finland. In: Harris, H., y Hirschhorn, K., (Eds.). *Advances in Human Genetics,* 6: 241-321. Plenum Press. New York.

MILLER, S.A., DYKES, D.D., y POLESKY, H.F., (1988). ACP1 polymorphism: five new variants detected by multiple elctrophoretic methods. In: Mayr, W.R. Ed. *Advances in Forensic Haemogenetics 2.* Springer Verlag. Berlin, Heidelberg. pp: 92-96.

MILLER, S.A., NELSON, M.S., DYKES, D.D., and POLESKY, H.F., (1987).

Comparison of acid phosphatse ACP1 variants by isoelectric focusing and conventional electrphoresis: Identification of three new alleles, ACP1*N, ACP1*P and ACP1*S. *Hum. Hered.,* 37: 371-375.

MITCHELL, C.D., y COWELL, J.K., (1988). Molecular evidence that the esterase D gene lies proximal to the retinoblastoma susceptibility tocus in chromosome region 13q14. *Hum. Genet.* 81: 57-60.

MODIANO, G., BATTISTUZZI, G., ESAN, G.J.F., TESTA, U., y LUZZATTO, L., (1979). Genetic heterogeneity of "normal" human erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase: A isoelectrophoretic polimorphism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 776: 852-856.

MODIANO, G., FILIPPI, G., BRUNELLI, F., SINISCALCO, M., (1968). Red cell acid phosphatase activity in carriers of ß-thalassemia trait and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Israel Journal of Medicical Sciences.* 4: 858-866.

MODIANO, G., SCOZZARI, R., GIGIANI, F, SANTOLAMAZZA, C., AFELTRA, P.E, y FRATTAROLI, W., (1970a). Red cell phosphoglucomutase polymporphism. I. Enzyme activity of different red cell PGM phenotypes. *Hum. Hered.*, 20: 86-93.

MODIANO, G., SCOZZARI, R., GIGIANI, F, SANTOLAMAZZA, C., SPENNATI, G.F., y SAINI, P., (1970b). Enzyme activity in two red cell AK phenotypes. *Am. J. Hum. Genet.* 22: 292-297.

MOHANDAS, T., SPARKES, R.S., SUH, E.J., y HERSHFIELD, M.S., (1984). Regional localization of the human genes for S-adenosulhomocysteine hydrolase (cenq131) and adenosine deaminase (q131qter) on chromosome

20. *Hum. Genet.,* 66: 292-295.

MOHRENWEISER, H., NEEL, J.V., MESTRINER, M.A., SALZANO, F.M., MIGLIAZZA, E., SIMÖES, A.L., y YOSHIHARA, C.M., (1979). Electrophoretic variants in three amerindian tribes: the Baniwa, Kanamari, and Central Pano of Western Brazil. *Am. J. Phys. Anthrop.* 50: 237-246.

MOHRENWEISER, H.W., y NOVOTNY, J.E., (1982). Characterization of a low activity variant of erythrocyte acid phosphatase, ACP1 *GUA-1: association with increased glutathione reductase activity. *Am. J. Hum. Genet.* 34: 425-433.

MONSALVE, M.V., ESPINEL, A., GROOT DE RESTREPO, H., CALVO, M., SUAREZ, M.C., y RODRIGUEZ, A., (1987). Frequency of five genetic polymorphisms in two populations of Colombia. *Rev. Brasil. Genet.*, X: 247-251.

MONTGOMERY, J.C., VENTA, P.J., EDDY, R.L., FUKUSHIMA, Y.S., SHOWS, T.B., y TASHIAN, R.E., (1991) Characterization of the human gene for a newly discovered carbonic anhydrase, CA VII, and its localization to chromosome 16. *Genomics*, 11: 835-848.

MOORE, M.J., DEUTSCH, H.F., y ELLIS, F.R., (1973). Human carbonic anhydrases. IX. Inheritance of variant erythrcyte forms. *Am. J. Hum. Genet.* 25: 29-35.

MOORE, M.J., FUNAKOSHI S., y DEUTSCH, H.F., (1971). Human carbonic anhydrases. VII. A new C type isoenzyme in erythrocytes of American negroes. *Biochem. Genet.* 5: 497-504.

MORAL, P., y PANADERO, A.M., (1984). Distribución de los sistemas enzimáticos 6-PGD (6-fosfogluconato deshidrogenasa) y ADA (adenosindeaminasa) en

Barcelona. *Trabajos de Antropología.* 19: 193-202.

MORENO, P., MAS, J., y RIBO, G., (1989). Frequency of the ESD*5 allele in a Spanish population. *Hum. Hered.* 39: 182-184.

MORENO, P., y MORAL, P., (1981). Estudio del polimorfismo de la fosfatasa ácida y esterasa D en Barcelona (España). *Revista Mexicana de Estudios Antropológicos* XXVII: 89-94.

MORILLA, J.M., AFONSO, J.M., HERNANDEZ, M., PESTANO, J.J., LARRUGA, J.M., (1988). Human enzyme polymorphism in the Canary Islands. II African influence. *Hum. Hered.*, 38: 101-105.

MÖRNER, M., (1966). Los esfuerzos realizados por la corona para separar los negros e indios en Hispanoamérica durante el siglo XVI. *En homenaje Estudios de Filología e Historia Literaria Lusohispanas e Iberoamericanas. Tercer lustro del Instituto de Estudios de estudios Hispánicos, portugueses e Iberoamericanos de la Universidad Estatal de Utrecht.* Van Goor Zonen. La Haya.

MORPURGO, G., MODIANO, G., ARESE, P., RANZANI, G.N., FELICETTI, L., TOZZI, F., MURA, G., y SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., (1983). Population genetic studies in Sikkin. *J. Hum. Evol.*, 12: 425-437.

MORTON, N.E., (1973). Prediciton of kinship from a migration matrix. In: Morton, N.E. Ed., *Genetic Structure of populations.* University of Hawaii Press. Honolulu. pp: 119-123.

MOTULSKY, A.G., (1964). Hereditary red cell traits and malaria. *Amer. J. Trop. Med.*, 13: 147-155. (Citado en Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

MOURANT, A.E., KOPEC, A.C., y DOMANIEWSKA-SOBCZAK, K., (1976). *The*

distribution of the Human Blood Groups and other polymorphisms. Oxford University Press. Oxford, New York, Toronto.

MULLIS, K., FALOONA, F., SCHARF, S., SAIKI, R.K., HORN, G., y ERLICH, H., (1986). Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology.* 51: 263-273

MUNIER, F., PESCIA, G., BLAMER, A., BÄR, W., ROTH, M., DIMO-SIMONIM, N., y WEIDINGER, S., (1988). A new allele of esterase D in a retinoblastoma family. *Hum. Genet.* 78: 289-290.

NAGEL, R.L., FABRY. M.E., PAGNIER, J., ZOHOUN, I., WAJCMAN, H., BAUDIN, V., y LABIE, D., (1985). Hematologically and genetically distinct forms of sickle cell anemia in Africa. *N. Engl. J. Med.,* 312: 880-884.

NAIDU, J.M., MOHRENWEISER, H.W., y NEEL, J.V., (1985). A sero-biochemical genetic study of Jalari and Brahmin caste populations of Andhra PRadesh, India. *Hum. Hered.,* 35: 148-156.

NAKAI, H., BYERS, M.G., VENTA, P.J., TASHIAN, R.E., y SHOWS, T.B., (1987). The gene for human carbonic anhydrase II (CA2) is located at chromosome 8q22. *Cytogenet. Cell. Genet.* 44: 234-235.

NEEL, J.V., (1991). Symposium on Sourh American Indians: introduction.*Hum. Biol.,*63: 737-741.

NEEL, J.V., GERSHOWITZ, H., MOHRENWEISER, H.W., AMOS, B., KOSTYU, D.D., SALZANO, F.M., MESTRINER, M.A., LAWRENCE, D., SIMOES, A., SMOUSE, P.E., OLIVER, W.J., SPIELMAN, R.S., y NEEL, J. Jr. (1980). Genetic studies on the Ticuna and enigmatic tribe of Central Amazonas.

Ann. Hum. Genet. 44: 37-54.

NEI, M., (1972). Genetic distance between populations. *Am. Nat.,* 106: 283-292.

NEI, M., (1977). F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Hum. Genet.,* 41: 225-233.

NEI, M., y CHAKRAVARTI, A., (1977). Drift variances of Fst and Gst statistics obtained from a finite number of isolated populations. *Theor. Popul. Biol.,* 11: 307-325.

NEI, M., y ROYCHOUDHURY, A.K., (1982). Genetic relationships and evolution of human races. In: Hecht, M.K., Wallace, B., y Prance, G.T. (Eds.). *Evolutionary Biology.* 14: 1-59. Plenum Press. New York.

NERVO, S., (1989). A new rare PGD variant, PGD Mediterranean. *Hum. Genet.* 81: 199.

NGUYEN V.C., BILLARDON, C., PICARD, J.Y., FEINGOLD, J., y FREZAL, J., (1971). Liaison probable (linkage) entre les locus PGM1 et peptidase C chez l'homme. *C.R. Acad. Sci. (D) Paris,* 272: 485.

NGUYEN V.C., BILLARDON, C., REBOURCET, R., LEBORGUE, C., PICARD, J.Y., WEIL, D., y FREZAL, J., (1972). Existence probable d'un second locus de AK liè au groupe PGM1-peptidase C. *Ann. Génét.*, 15: 213-218.

NISHIGAKI, I., y ITOH, T., (1984). Isoelectric focusing studies of human red cell esterase D: evidence for polymorphic ocurrence of a new allele ESD 7 in Japanese. *Hum. Genet.* 66: 92-95.

NISHIGAKI, i., ITOH, T., y OGASAWARA, N., (1983). Quantitatibe variants in polymorphic types of human red cell esterase D. *Ann. Hum. Genet.* 47: 187-192.

NOPPINGER, K.E., y MORRISON, R.D., (1981). Determination of carbonic anhydrase (CAII) phenotypes in bried bloodstains by cellulose-acetate electrophoresis. *J. For. Sci.* 26: 176-180.

NURSE, G.T., JENKINS, T., SANTOS DAVID, J.H., y STEINBERG, A.G., (1979). The Njinga of Angola: a serogenetic study. *Ann. Hum. Biol.*, 6: 337-348.

OJIKUTU, O., NURSE, G.T., y JENKINS, T., (1977). Red cell enzyme polymorphisms in the Yoruba. *Hum. Hered.,* 27: 444-453.

OLAISEN, B., GEDDE-DAHL, T., y THORBY, E. (1976). Localization of the human GLO gene locus. *Hum. Genet.* 32: 301-304.

OLAISEN, B., SIVERTS, A., JONASSEN, R., MEVAG, B., y GEDDE-DAHL, T., (1981). The ESD polymorphism: Further studies of the ESD 2 and ESD 5 allele products. *Hum. Genet.* 57: 351-353.

OMOTO, K., MISAWA, S., HARADA, S., SUMPAICO, J.S., MEDADO, P.M., y OGONUKI, H., (1978). Population genetic studies on the Filippine negritos. I. A pilot survey of red cell enzyme and serum protein groups. *Am. J. Hum. Genet.,* 30: 190-201.

ORKIN, S.H., y NATHAN, D.G., (1981). The molecular genetics of Thalassemia. *Adv. Hum. Genet.,* 11: 233-280.

ORTIZ, A., (1983). *Juyungo. Historia de un negro, una isla y otros negros.* Editorial Seix Barral. Barcelona.

OWUSU, S.K., y OPERE-MANTA, A., (1972). Electrophoretic characterization of G6PG in Ghana. *Lancet,* 2: 44.

OZELIUS, L.J., KWIATKOWSKI, D.J., SCHUBACK. D-E-. BREAKEFIELD, X.O., WEXLER, N.S., GUSELLA, J.F., y HAINES, J.L., (1992). A genetic linkage

map of human chromosome 9q. *Genomics*, 14: 715-720.

PÄÄBO, S., (1990). Amplifying ancient DNA. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., y White T.J., (Eds.). *PCR protocols*. Academic Press. New York. p: 159.

PÄÄBO, S., (1989). Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 1939-1943.

PALENQUE. Boletín informativo. (1992). El Negro en Ecuador. nº 2. Centro Cultural afro-ecuatoriano. Quito.

PALMARINO, R., AGOSTINO, R., GLORIA, F., LUCARELLI, P., BUSINCO, L., ANTONIONI, G., MAGGIONI, G., WORKMAN, L., y BOTTINI, E., (1975). Red cell acid phosphatase, an other polymorphism correlated with malaria? *Am. J. Phys. Antrop.* 43: 177-185.

PANCORBO, M.M. de, ISUSQUIZA, M., AGUIRRE, A.S., MAZON, L.I., y LOSTAO, C.M., (1983). Red cell glyoxalase I polymorphism in Basque and Castilian populations. *Hum. Genet.* 64: 395-397.

PANCORBO, M.M. de, MAZON, L.I., AGUIRRE, A.S., DE LA RICA, C., VICARIO, A., y LOSTAO, C.M., (1987). Some genetic markers in Castillian populations. *Annals of Human Biology* 14: 263-270.

PANCORBO, M.M. de, MAZON, L.I., y LOSTAO, C.M., (1986). A cline in the acid phosphatase distribution in the Iberian Peninsula. *Annals of Human Biology.* 13: 297-300.

PANCORBO, M.M. de, MAZON, L.I., AGUIRRE, A.S., DE LA RICA, C., VICARIO, A., y LOSTAO, C.M., (1989). Some red cell enzymes and haptoglobin gene frequencies in two Basqe regions and Leon. *Annals of Human Biology.* 16:

147-154.

PARR, C.W., (1966). Erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase polymorphism. *Nature*, 210: 487.

PARR, C.W., y FITCH, L.I., (1967). Inherited quantitative variantions of human phosphogluconate dehydrogenase. *Ann. Hum. Genet.* 30: 339-353.

PELLICER, CASADO, A., (1970). Frequency of thalassemia and G6PD defiency in 5 provinces of Spain. *Am. J. Hum. Gent.*, 22: 298-303.

PEÑA GARCIA, J.A., (1988). *Estructura demográfica y genética de la población del valle de Orozco (Vizcaya). Siglos XVI-XX.* Tesis Doctoral. Universidad del Pais Vasco. Bilbao.

PERALTA, G., (1979). *Las rutas negreras.* vol 4. Universidad Nacional Federico Villarreal. Dirección Universitaria de Investigación. Lima.

PEREZ-GUTIERREZ, R., (1988). *Tipificación de los marcadores GC, PI, PGM1 y TF en la población autóctona de Granada y en Andalucia.* Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Granada.

PORRAS GARCES, P., (1988). Evidencias arqueológicas sobre la presencia del hombre de raza negra en la prehistoria ecuatoriana. En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia de Ecuador y Sur de Colombia.* Ediciones Abya-Yala. Quito. pp: 15-28.

POVEY, S., SALUGHTER, C.A., WILSON, D.E., GORMLEY, I.P., BUCKTON, K.E., PERRY, P., y ?. BOBROW., (1976). Evidence for the assigment of the loci AK1, AK3 and ACONs to chromosome 9 in man. *Ann. Hum. Genet.*, 39: 413-422.

PRAGER, E.M.M y WILSON, A.C., (1978). Construction of phylogenetic trees for

proteins and nucleic acids: empirical evaluation of alternative matrix methods. *J. Mol. Evol.,* 11: 129-142.

PUJOL, N., (1970-71). La raza negra en el Choco. Antropología Física. *Revista Colombiana de Antropología.* vol XV. Bogota. pp: 255-292.

RACZEK, E., y GRZESIK, J., (1986). A silent allele for red cell acid phosphatase in a polish family. *Hum. Hered.* 36: 339-340.

RADAM, G., y STRAUCH, H., (1971). Ein schr seltener Phänotyp im isoenzymsystem der adenylatkinase des Menschen: AK 3-2. *Humangenetik,* 11: 264-265.

RADAM, G., STRAUCH, H., y MARTIN, W., (1980). Der phänotyp "Rügen" in polymorphismus der esterase D: Hinweis auf die existenz eines neuen allels (ESD 6). *Blut,* 40: 337-341.

RADAM, G., STRAUCH, H., y PROKOP, O., (1974). Ein seltner phanotyp im Adenosindeaminase-polymorphismus: Hinweis auf die existens eines neuen allels. *Humangenetik,* 25: 247-250.

RADAM, G., STRAUCH, H., y VAVRUSA, B., (1975). Zur differenzierumg der varianten 5-1 und 6-1 im adenosindeaminase-polymorphismus. Nachweis des neuen phanotypes ADA 5-2 in der CSSR. *Humangenetik,* 26: 151-154.

RANALLETTA, D., DESTRO-BISOL, G., y SPEDINI, G., (1986). Anthropological survey on some populations of the Congo. I: Subtyping of Phosphoglucomutase (PGM1) polymorphism. *J. Hum. Evol.,* 15: 47-50.

RANDALL, T., HARLAND, W.A., y THORPE, J.W., (1980). A method of phenotyping erythrocyte acid phosphatase by isoelectric focusing. *Med. Sci. Law.,* 20: 43-47.

RANZANI, G., ANTONINI, G., y SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., (1979). Red cell glyoxalase I polymorphism in Italians. Report of a variant phenotype. *Hum. Hered.* 29: 261-264.

RAPLEY, S., y HARRIS, H., (1970). Red cell adenylate kinase activity in AK 1 and AK 2-1 phenotypes. *Ann. Hum. Genet.* 33: 361-364.

RAPLEY, S., ROBSON, E.B., y HARRIS, H. (1967). Data on the incidence, segregation and linkage relations of the adenylate kinase (AK) polymorphism. *Ann. Hum. Genet.* 31: 237-242.

RAYMONDJEAN, M., RAYMONDJEAN, N., DIEBOLT, G., LINHARD, J., MOULLEC, J., (1975). Phenotypes des isozymes erythrocitaires phosphatase acida, phosphoglucomutase, adenylate kinase, adenosine deaminase dans un e'chantillon de population de Dakar (Senegal). *Bull. Soc. Anthrop. Paris.,* XIII: 17-21.

REED. T.E. (196). Caucasian genes in American Negroes. *Science,* 165: 762-768.

RENNINGER, W., y BIMBOESE, C., (1970). Zur genetik der erythrocyten-adenosindeaminase. Genfrequenzen und familienuntersuchungen. *Humangenetik*, 9, 34-37.

REYS, L., MANSO, C., STAMATOYANNOPOULOS, G., (1970). Genetic studies on Southeastern Bantú of Mozambique. I. Variants of Glucose-6-P dehydrogenase. *Am. J. Hum. Genet.,* 22: 203-215.

RIBO, G., MAS, J., y MORENO, P., (1988). Glyoxalase I polymorphism in Catalonia (Spain). *Hum. Hered.*, 38: 62-63.

RICKARDS, O., BIONDI, G., DE STEFANO, G.F., y BATTISTUZZI, G., (1988). Distribution of genetically determined deficient variants of Glucose-6-

phosphate dehydrogenase (G6PD) in Southern Italy. In: Mayr, W.R. Ed. *Advances in Forensic Haemogenetics 2*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

RICKARDS, O., BIONDI, G., DE STEFANO, G.F., VECCHI, F., y WALTER, H., (1992). Gene structure of the population of Sicily. *Am. J. Phys. Anthrop.*, 87: 395-406.

RICKARDS, O., y CANN, R.L. (1991). Mitochondrial DNA diversity in Ecuadorian Cayapa Amerindians and in sub-saharan Africnas of Benin. *IX Congresso degli Antropologi Italiani. Sommari dei Contributi Scientifici.* Bari Ottobre 1991. Adiatrica Editrice. Bari. pp: 129.

RICKARDS, O., FUCIARELLI, M., y BIONDI, G., (1986). Ricerche antropologiche in una comunitá del Nicaragua. Nota III: Analisi genetica della popolazione di Mateare. *Rivista di Antropologia.* LXIII: 199-206.

RICKARDS, O., TARTAGLIA, M., MARTINEZ-LABARGA, C., y DE STEFANO, G.F., (1993). Genetic characterization of the Cayapa Indians of ecuador and their genetic relationships with other Native American populations. *Hum. Biol.* (en prensa).

RIDDLE, V.M., y LORENZ, F.W., (1973). Nonenzymic formation of toxis levels of metylglyoxal from glycerol and dehydroxy-acetone in Ringeis phosphate suspensions of avian spermatozoa. *Biochem. Biophys.* 50: 27-34.

RITTNER, CH., y MÜLLER, G., (1975). Esterase D: some population and formal genetica data. *Hum. Hered.* 25: 152-155.

RIZZI, A., (1985). *Analisis dei dati. Aplicacioni dell'informatica alla statistica.* La Nuova Italia Scientifica. Roma.

ROBERTS, D.F. (1983). Anthropogenetics in a Hybrid Population. The Black Carib

Studies. En: Crawford, M.H. Ed. *Current developments in Anthropological Genetics.* vol 3. pp. 381-389.

ROBERTS, D.F. (1983). Genetic polymorphism. A widening panorama. In: Roberts, D.F., y De Stefano, G.F. (Eds.). *Genetic variation and its maintenance.* Cambridge University Press. Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne, Ssydeney. pp: 1-10.

ROGER, P.A., y HOPKINSON, D.A., (1981). A comparison of the kinetic properties of the common and rare variants of adenosine deaminase. *Ann. Hum. Genet.,* 45: 21-28.

ROHLF, J., (1988). *NTSYS pc. Numerical taxonomy and multivariate anlysis system for the IBM PC microcomputer (and compatible). Version 1.40. Supplement.* Exeter publishing Ltd. New York.

ROHLF, F.J., y SOKAL, R.R., (1969). *Statistical tables.* W.H. Freeman and Company. San Francisco. pp. 253.

ROMERO, S.L., SIBON, J.A., LEON, R., y NAVARRO, A., (1986). Polimorfismos de la ADA, AK y PGD en la población de Cadiz (Sur de España). *Actas de las Jornadas Mediterraneas de Medicina Legal y Forense.* pp: 374-377.

ROSA, R.L., SALZANO, F.M., FRANCO, M.H.L.P., y FREITAS, M.J.M., (1984). Blood genetic studies in five Amazonian populations. *Rev. Bras. Genet.,* 7: 569-582.

ROSENBLAT, A., (1954). *I: La Población Indígena: 1492-1950. II: El Mestizaje y las Castas Coloniales.* Editorial Nova. Buenos Aires.

ROSTHSCHILD, C.B., AKOTS, G., HAYWORTH, R., PETTENATI, M.J., RAO, P.N., WOOD, P., STOLZ, F.M., HANSMAN, I., SERINO, K., KEITH, T.P., FAJANS.

S.S., y BONDEN, D.W., (1993). A genetic map of chromosome 20q12-q131 multiple highly polymorphic microsatellite and RFLP markers linked to the maturity onset Diabetes of the young (NODY) locus. *Am. J. Hum. Genet.,* 52: 110-123.

ROTH, E.F. Jr., RAVENTOS-SUAREZ, C., RINALDI, A., y NAGEL, R.L., (1983). Glucose-6-phospahte dehydrogenase i vitro growth of Plasmodium falciparum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80: 298.

ROYCHOUDHURY, A.K., y NEI, M., (1988). *Human polymorphic genes. World distribution.* Oxford University Press. Oxford, New York.

RUCKNAGEL, D.L., y NEEL, J.V., (1961). The hemoglobinophathies. *Prog. Med. Gen.,* 1: 158-260. (Citado en Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

SAHA, N., KIRK, R.L., SHANBHAG, S., JOSHI, S.H., y BHATIA, H.M., (1974). Genetic studies among the Kadar of Kerala. *Hum. Hered.,* 24: 198-218.

SAHA, N., y SAMUEL, APW., (1987). A genetic study of Blacks from Trinidad. *Hum. Hered.*, 37: 365-370.

SAHA, N., SAMUEL, APW., OMER, A., y HOFFBRAND, A.V., (1983). The inter and intratribal distribution of red cell G6PD phenotypes in Sudan. *Hum. Hered.* 33: 39-43.

SAIKI, R.K., SCHARK, S., FALOONA, F., MULLIS, KB., HORN, G.T., ERLICH, H.A., y ARNHEIM, N., (1985). Enzymatic amplification of ß-globin genomic sequences amd restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science,* 230: 1350-1354.

SALZANO, F.M., (1987). Rassengeschichte der Menschheit. 12. Lieferun. America II: Mittel und Südamerika. En: Schwidetzky, I. Ed. R. Oldenboug Verlag.

München. pp: 137-175.

SALZANO, F.M., y CALLEGARI-JACQUES, S.M., (1988). *South American Indians: a case study in evolution.* Clarendon Press: Oxford.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F., y MANIATIS, T., (1989). *Molecular Cloning. A laboratory Manual.* Second Edition. Cold Spring Harbor. Laboratory Press. New York.

SANCHEZ MONTAÑEZ, E., (1980). *Las figurillas de Esmeraldas: Tipología y función.* Ministerio de Asuntos Exteriores. Madrid.

SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., BERETTA, M., NEGRI, M., RANZANI, G., ANTONINI, G., BARBERIO, C., MODIANO, G., y CAVALLI-SFORZA, L.L., (1980). Population genetics of red cell enzymes in Pygmies: a conclusive account. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 934-954.

SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., CATTANEO, A., y MEERA KHAN, P., (1972). A new variant allele AK*5 of the red cell adenylatekinase polymorphism in a non-tribal indian population. *Hum. Hered.*, 22: 171-173.

SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., MODIANO, G., y NEGRI, M., (1969). Studies on African Pygmies. II Red cell phosphogluconate studies in Babinga Pygmies: A common PGM2 variant allele. *Am. J. Hum. Genet.,* 21: 315-321.

SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., RANZANI, G.N., y ANTONINI, G., (1981). Subtyping of human red cell phosphoglucomutase locus 1 (PGM1) polymorphism: a third PGM1*1 allele common among TWA pygmies from north Rwanda. *Am. J. Hum. Genet.,* 33: 817-822.

SANTOS, S.E.B., GUERREIRO, J.F., SALZANO, F.M., WEIMER, T.A., HUTZ, M.H.,

y FRANCO, M.H.L.P., (1987). Mobility, blood genetic traits and race mixture in the Amazonian population of Oriximina. *Rev. Brasil. Genet.*, 4: 745-759.

SANTOS, S.E.B., SALZANO, F.M., FRANCO, M.H., L.P., FREITAS, M.J.M., (1983). Mobility, genetic markers, susceptibility to malaria and race mixture in Manaus, Brazil. *J. Hum. Evol.,* 12: 373-381.

SATOH, C., FERRELL, R.E., TANIS, R.J., UEDA, N., KISHIMOTO, S., NEEL, J.V., HAMILTON H.B., y BABA, K., (1977). The frecuency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. III. Phosphoglucomutase-1, phosphoglucomutase-2, 6-phosphogluconate dehydrogenase, adenilate kinase, adn adenosine deaminase. *Ann. Hum. Genet.,* 41: 169-183.

SAVOIA, R., (1987). Realidad Afroecuatoriana. *Apertura.* nº 4. pp: 53-59.

SAVOIA, R., (1988a). El negro Alonso de Illescas y sus descendientes (1553-1837). En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia de Ecuador y Sur de Colombia.* Ediciones Abya-Yala. Quito. pp: 29-62.

SAVOIA, R., (1988b). Asentamientos negros en el norte de la provincia de Esmeraldas. En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia de Ecuador y Sur de Colombia.* Ediciones Abya-Yala. Quito. pp: 63-79.

SAVOIA, R., (1990). Historia social de Uimbi. En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia: aportes para el conocimiento de las raices en América Latina.* Centro Cultural Afro-Ecuatoriano. Departamento de Pastoral Afro-Ecuatoriana. Quito. pp: 199-209.

SAVOIA, R., (1992). Esmeraldas a mediados del siglo XVIII. En: Savoia, R. Ed. *El Negro en la Historia. Raices africanas en la nacionalidad Ecuatoriana -500 años-.* Ediciones Afroamerica. Quito. pp. 11-30.

SCACCHI, R., CORBO, R.M., PALMARINO, R., SACO, G., ARNONE, M., y LUCARELLI, P., (1983). Human phosphoglucomutase locus I: red cell enzymatic activities with common isoelectric focusing phenotypes. *Hum. Hered.,* 33: 218-222.

SCHLESINGER, D., NOWICKA, J., MANCZAK, M., (1986). AK phenotypic changes observed in some hematologic diseases. *Arch. Immunol. Ther. Exp. Warsz.* 34: 175-181.

SCHLEUTERMANN, D.A., BIAS, W.D., MURDOCH, J.L., y MCKUSICK, V.A., (1969). Linkage of the loci for the nail-patella syndrome and adenylate kinase. *Am. J. Hum. Genet.* 21: 606-630.

SCHNEIDER, H., GUERREIRO, J.F., SANTOS, S.E.B., WEIMER, T.A., SCHNEIDER, M.P.C., y SALZANO, F.M., (1987). Isolate breakdown in Amazonia -the blacks of the Trombetas River. *Rev. Brasil. Genet.,* X: 565-574.

SCHNEIDER, H., y SALZANO, F.M., (1979). Gm allotypes and racial admixture in two Brazilian populations. *Hum. Genet.,* 53: 101-105.

SCHÜLER, L., SALZANO, F.M., FRANCO, M.H.L.P., FREITAS, M.J.M., MESTRINER, M.A., y SIMOES, A.L., (1982). Demographic adn blood characteristics in an Amazonian populations. *J. Hum. Evol.*, 11: 549-558.

SCHURR, T.G., BALLINGER, S.W., GAN, Y.Y., HODGE, J.A., MERRIWETHER, D.A., LAWRENCE, D.N., KNOWLER, W.C., WEISS, K.M., y WALLACE, D.C., (1990). Amerindian mitochondrial DNAs have rare asian mutations at high frequencies, suggestiong they derived from four primary maternal lineages. *Am. J. Hum. Genet.,* 46: 613-623.

SCOTT, E.M., y WRIGHT, R.C., (1978). Purification and substrate specifity of

polymorphic forms of esterase D from human erythrocytes. *Am. J. Hum. Genet.* 30: 14-18.

SCOZZARI, R., IODICE, C., SELLITTO, D., BRDICKA, R., MURA, G., SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., (1984). Population studies on human phosphoglucomutase-1. Thermostability polymorphisms. *Hum. Genet.,* 68: 314-317.

SCOZZARI, R., TRIPA, G., SANTACHIARA-BENERECETTI, A.S., TERRENATO, L., IODICE, C., y BENINCASA, A., (1981). Futher genetic heterogeneity of human red cell phosphoglucomutase 1: a non electrophoretic polymorphism. *Ann. Hum. Genet.* 45: 313-322.

SEGER, T.J., TCHEN, P., FEINGOLD, N., GRENAND, F., BOIS, E., (1978). Homozygosity of adenilate kinase allele 3: two cases. *Hum. Genet.* 43: 337-339.

SENSABAUGH, G.F., y GOLDEN, V.L., (1978). Phenotype dependence in the inhibition of red cell acid phosphatase (ACP) by folates. *Am. J. Hum. Genet.* 30: 553-560.

SHIELDS, G.F., HECKER,K., VOEVODA, M.I., y REED, J.K., (1992). Absence of the Asian-specific region V mitochondrial marker in Native Beringians. *Am. J. Hum. Genet.*, 50: 758-765.

SIMON, C., FRANKE, A., y MARTIN, A., (1991). The Polymerase Chain Reaction: DNA extraction and amplification. In: Hewitt, G.M., Johnston, A.W.B., y Young, J.P.W., (Eds.). *Molecular taxonomy.* NATO Advanced Studies Institute, Springer Verlag. Berlin.

SINGER, J.D., y BROCK, D.J.H., (1971). Half normal adenylate kinase activity in

three generations. *Ann. Hum. Genet.* 35: 109-

SLY, W.S., HEWETT-EMMETT, D., WHYTE, M.P., YU, Y.S.L. y TASHIAN, R.E., (1983). Carbonic anhydrase II deficiency identified as the primary defect in the autosomal recessive symdrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80: 2752-2756.

SNEATH, P.H.A., y SOKAL, R.R., (1973). *Numerical Taxonomy.* W.H. Freeman. San Francisco.

SOFRO, A.S.M., y KIRK, R.L., (1986). Genetic variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase in the Indonesian populations. *Hum. Hered.,* 36: 101-106.

SOKAL, R.R., y ROHLF, F.J., (1979). *Biometria: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica.* H. Blume Ediciones. Madrid. pp. 832.

SPARKES, R.S., MURPHREEE, A.L., LINGUA, R.W., SPARKES, M.C., LEIGHFIELD, L., FUNDERBURK, S.J., y BENEDICT, W.F., (1983). Gene for hereditary retinoblastoma asigned to human chromosome 13 by linkage to esterase D. *Science.* 219: 971-973.

SPARKES, R.S., SPARKES, M.C., WILSON, M.G., TOWNER, J.W., BENEDICT, W., LINNMURPHEE, A., y YUNIS, J.J., (1980). Regional assignment of genes for human esterase D and retinoblastoma to chromosome band 13q14. *Science.* 208: 1042-1044.

SPARKES, R.S., TARGUM, S., GERSHON, E., SENSABAUGHM G.F., SPARKES, M.C., y CRIST, M., (1979). Evidence for a null allele at the esterase D (E.C. 3.1.1.1.) locus. *Hum. Genet.* 46: 319-323.

SPEDINI, G., CAPUCCI, E., CROSTI, N., DANUBIO, M.E., y ROMAGNOLI, S.,

(1982). Erythrocyte Glyoxalase I and Superoxide Dismutase Polymorphisms in the Mbugu and some other populations of the Central African Republic. *Hum. Hered.* 32: 253-258.

SPEDINI, G., CAPUCCI, E., FUCIARELLI, M., y RICKARDS, O., (1980). The ACP polymorphism frequencies in the Mbugu and Sango of Central Africa (correlations between the P^R allele frequencies and some climatic factors in Africa). *Annals of Human Biology*, 7: 125-128.

SPEDINI, G., CAPUCCI, E., RICKARDS, O., FUCIARELLI, M., GIACCAIA, L., AEBISCHER, M.L., MANNELLA, E., y LORETI, O., (1981a). Some genetic erythrocyte polymorphisms in the Mbugu and other populations of the Central African REpublic with an anlysis of genetic distances. *Anthrop. Anz.*, 39: 10-19.

SPEDINI, G., DANUBIO, M., FUCIARELLI, M., y RICKARDS, O., (1981b). Polimorfismi eritrocitari. In: Cresta, M., y Avoundogba, N., (Eds.). *Risultati dello studio longitudinale dalla nascita a 5 anni in un gruppo di bambini di Porto Novo (Repubblica Popolare del Benin). Rivista di Antropologia,* LXI: 56-62.

SPEDINI, G., FUCIARELLI, M., y RICKARDS, O., (1980). Blood polymorphism frequencies in the Tofinu the "Water Men" of Southern Benin. *Anthrop. Anz.,* 38: 121-130.

SPEDINI, G., MENCHICCHI, F., DESTRO BISOL, G., y SCHANFIELD, M., (1986). Migration and gentic polymorphisms insome Congo peoples. In: Roberts, C.F., y De Stefano, G.F., (Eds.). *Genetic variation and its maintenance.* Cambridge University Press. Cambridge, London, New York, New Roychelle,

Melbourne, Sydney. pp: 191-197.

SPEDINI, G., WALTER, H., CAPUCCI, E., FUCIARELLI, M., RICKARDS, O., AEBISCHER, H.L., y CROSTI, N., (1983). An anthropobiological study in Basse Kotto (Central AFrica). I. Erythrocyte and sero-genetic markers, an analysis of the genetic differentiation. *Am. J. Phys. Anthrop.*, 60: 39-47.

SPEISER, S., (1985). *Tradiciones Afro-esmeraldeñas*. Ediciones Abya-Yala. Quito.

SPENCER, N., HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1964a). Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature*, 204: 742-746.

SPENCER, N., HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1964b). Quantitative differences and gene dosage in the human red cell acid phosphatase polimorphisms. *Nature.* 204: 299.

SPENCER, N., HOPKINSON, D.A., y HARRIS, H., (1968). Adenosine deaminase polymorphism in man. *Ann. Hum. Genet.,* 32: 9-14.

SPIELMANN, W., y KÜHNL, P., (1982). *Blutgruppenkunde.* Verlag. Stuttgard-New York.

SPIESS, E.B., (1989). *Genes in populations*. II Edition. J. Wiley and Sons, Ed. New York.

STONEKING, M., y WILSON, A., (1989). Mitochondrial DNA. In: Hill, A.V.S., y Serjeantson, S.W., (Eds.). *The colonization of the Pacific. A genetic trail.* Research Monographs on Human Population Biology. n. 7. Oxford Science Publications. Clarndon Press. Oxford.

SUMMERS, K.M., (1987). DNA polymorphisms in human population studies: a review. *Ann. Hum. Biol.*, 14: 203-217.

SUTTON, J.G., (1979). Characterization of the isoenzymes of phosphoglucomutase

(PGM) determinated by the first (PGM1) and second (PGM2) locus observed by isoelectric focusing. *Hum. Genet.,* 47: 279-290.

SUZUKI, D.T., GRIFFTHS, A.J.F., MILLER, J.H., y LEWONTIN, R.C., (1986). *An introduction to genetic analysis.* Ed. W.H. Freeman and Company. New York.

SUZUKI, K., HISHIDA, S., ITO, S., MIYAZAKI, T., MATSUI, K., y MATSUMOTO, H., (1988). A PGM1*1A variant with a reduced activity. *Hum. Hered.,* 38: 326-328.

SWOFFORD, D.L., y SELANDER, R.B., (1989). *BIOSYS-1. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1.7.* David L. Swofford, Illinois Natural History Survey Press.

SZENT-GYORDGYI, A., EGYUD, L.G., y MC LAUGHLIN, J.A., (1967) Keto-aldehydes and cell division. *Science.* 155: 539-541.

TAKAHASHI, N., NEEL, J., SATOH, C., HIZAKI, J., y MASUNARI, N., (1982). A philogeny for the principal alleles of the human phosphoglucomutase-1 locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 79: 6636-6640.

TANIS, R.J., NEEL, J.V., y TORRES DE ARAUZ, R., (1977). Two more "private" polymorphisms of Amerindian Tribes LDH B-GUA-1 and ACP1 B-GUA-1 in the Guaymi in Panama. *Am. J. Hum. Genet.,* 29: 419-430.

TARTAGLIA, M., y RICKARDS, O., (1993). Worldwide distribution of phosphoglucomutase 1 (PGM1) polymorphism detected by isoelectric focusing: a review. *International Journal of Anthropology.* (En prensa).

TASHIAN, R.E., (1969). The esterases and carbonic anhydrases of human

erythrocytes. In: Yunis, J.J. Ed. *Biochemical methods in red cell genetics.* Academic Press, New York. pp: 307-336. (Cit. Tashian y Carter, 1976)

TASHIAN, R.E., y CARTER, N.D., (1976). Biochemical genetics of carbonic anhydrase. In: *Advances in Human Genetics*. Plenum Press. New York. pp: 1-56.

TASHIAN, R.E., KENDALL, A.G., y CARTER, N.D., (1980). Inherited variants of human red cell carbonic anhydrases. *Hemoglobin*, 4: 635-651.

THE NEW ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. (1991). vol. 4. Ecuador. The University of Chicago Press. Chicago, Auckland, Geneva, London, Madrid, Manila, Paris, Rome, Seoul, Tokyo, Toronto.

TILLS, D., KOPEC, A.C., y TILLS, R.E., (1983). *The distribution of the human blood groups and other polymorphisms. Supplement 1.* Oxford Monographs on Medical Genetics. Oxford University Press. Oxford, New Yok, Toronto.

TILLS, D., VAN DEN BRANDEN, J.L., CLEMENTS, V.R., y MOURANT, A.E., (1970). The world distribution of electroforetic variants of the red cell enzyme adenylate kinase. *Hum. Hered.*, 20: 517-522.

TILLS, D., VAN DEN BRANDEN, J.L., CLEMENTS, V.R., y MOURANT, A.E., (1971). The world distribution of electroforetic variants of the red cell enzyme AK. *Hum. Hered.*, 21: 302-304.

TISCHFIELD, J.A., CREAGAN, R.P., NICHOLS, E.A., y RUDDLE, F.H., (1974). Assignment of a gene for adenosine deaminase to human chromosome 20. *Hum. Hered.*, 24: 1-11.

TUROWSKA, B., (1984). Evident of a "new" allele of red cell acid phosphatase ACP*K. *Forensic Science International*, 26: 163-167.

UOTILA, L., (1984). Polymorphism of red cell S-phormylgluthatione hydrolase in a Finnish population. *Hum. Hered.,* 34: 273-277.

VALENTINE, W.N., PAGLIA, D.E., NEERHUNT, R.C., y KONRAD, P.N., (1970). Erythrocyte glyoxalase II deficiency with coincidental hereditary elliptocytosis. *Blood.* 36: 797-808.

VALENTINE, W.N., y TANAKA, K.R., (1961). The glyoxalase content of human erythrocytes and leukocytes. *Acta haemat.* 26: 303-316.

VAN HEYNINGEN, V., BROBROW, M., BODMER, W.F., GARDINER, S.E., POVEY, S., y HOPKINSON, D.A., (1975). Chromosome assigment of some human enzyme loci: mitochondiral malate dehydrogenase to 7, mannosephosphate isomerase and pyruvate kinase to 15, and probably, esterase D to 13. *Ann. Hum. Genet.* 38: 295.

VARGAS, J.M., (1981). Miguel Cabello Balboa y su descripción de la provincia de Esmeraldas. *Apertura.* nº 3. pp: 12-24.

VENTA, P.J., SHOWS, T.B., CURTIS, P.J., y TASHIAN, R.E., (1983). Polymorphic gene for human carbonic anhydrase II: A molecular disease marker located on chromosome 8. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80: 4437-4440.

VENTA, P.J., WELTY, R.J., JOHSON, T.M., SLY, W.S., y TASHIAN, R.E., (1991). Carbonic anhydrase II deficiency syndrome in a Belgian family is caused by a point mutation at an invariant histidine residue (107 His--Tyr): complete structure of the normal human CA II gene. *Am. J. Hum. Genet.* 49: 1082-1090.

VERGNES, M., y CABANNES, R., (1976). Polymorphism of erythrocyte and serum enzyme systems in the Gagu of the Ivory Coast. *Ann. Hum. Biol.,* 3: 423-

429.

VERGNES, M., y GOURDIN, D., (1974). Further data on the distribution of some red cell enzyme variants in African populations. *Hum. Hered.,* 24: 463-471.

VIGILANT, L., STONEKING, M., y WILSON, A., (1988). Conformational mutation in human mtDNA detected by direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *Nucleic Acid Research*, 16: 5945-5955.

VULLIAMY, T.J., D'URSO, M., BATTISTUZZI, G., ESTRADA, M., FOULKES, N.S., MARTINI, G., CALABRO, V., POGGI, V., GIORDANO, R., TOWN, M., LUZZATTO, L., y PERSICO, M.G., (1988). Diverse point mutations in the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene cause enzyme deficiency and mild or severe hemolytic anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85: 5171-5175.

VULLIAMY T., MASON, P., y LUZZATTO, L. (1992). The molecular basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *TIG,* 8: 138-143.

VULLIAMY, T.J., OTHMAN, A., TOWN, M., NATHWANI, A., FALUSI, A.G., MASON, P.J., y LUZZATTO, L., (1991). Polymorphic sites in the African population detected by sequence analysis of the Glucose-6-phosphate dehydrogenase gene outline the evolution of the variants A and A-. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 8568-8571.

WAKITA, Y., NARAHARA, K., TAKAHASHI, Y., KIKKAWA, K., KIMURA, S., ODA, S., y KIMOTO, H., (1985). Duplication of 2p25: confirmation of the assignment of soluble acid phosphatase (ACP1) locus to 2p25. *Hum. Genet.* 71. 259-260.

WALTER, H., (1976). On the grographical variability of the red cell PGM1 and Acid

phosphatase gene frequencies. *Hum. Hered.*, 26: 25-33.

WALTER, H., BRACHTEL, R., y HILLING, M., (1977). Esterase D phenotypes in psoriasis vulgaris, atopic diseases and healthy controls. *Hum. Hered.*, 27: 377-380.

WARBURG, O., y CHRISTIAN, M., (1931). Uber aktivierung der Robinson´schen hexose-monophosphatsaure in roten blutzellen und die gewinnung aktivierender. *Fermentlosungen. Biochem.* 242, 2: 206. (Citado en Flatz y Xirotiris, 1980)

WARD, L.J., ELSTON, R.C., KEATS, B.J.B., y GRAHAM, J.B., (1985). PGM1 null allele detected in a caucasian mother-son pair. *Hum. Hered.*, 35: 178-181.

WARD, R.H., FRAZIER, B.L., DEW-JAGER, K.-, y PÄÄBO, S., (1991). Extensive mitochondrial diversity within a single Amerindian tribe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 8720-8724.

WEIDINGER, S., y HENKE,J., (1988). Two new esterase D (ESD) variants revealed by isoelectric focusing in agarose gel. *Electrophoresis.* 9: 429-432.

WEIDINGER, S., y SCWARFISHER, F., (1988). PGD Duisburg: a new variant of 6-phosphogluconate dehydrogenase. En: Mayr, W.r., Ed. *Advances in Forensic Haemogenetics 2.* Springer- Verlag.

WEIMER, T.A., SALZANO, F.M., y HUTZ, M.H., (1981). Erythrocyte isozymes and hemoglobin types in a Southern Brazilian population. *J. Hum. Evol.*, 10: 319-328.

WEISSMANN, J., (1983). Populationsgenetikder enzympolymorphismen ACP, ADA, AK, ESD, GLO1, GPt und PGM1 bei Bantus-Xhosa und Europiden aus Sudafrika. *Z. Morpho. Anthrop.*, 74: 39-44.

WEISSMANN, J., y PRIBILLA, O., (1981). A new allele of AK polymorphism: AKO. *Z.Rechtsmed.* 87: 261-265.

WEISSMANN, J., VOLLMER, M., y PRIBILLA, O., (1982). Survey of the distribution of adenosine deaminase and superoxide dismutase markers in different populations. *Hum. Hered.,* 32: 344-356.

WELCH, S.G., (1974). Red cell esterase D polymorphism in Gambia. *Humangenetik*, 21: 365-367.

WELCH, S.G., SWINDLEHURST, C.A., MCGREGOR, IA., y KILLIAMS, K., (1978). Isoelectric focusing of human red cell phosphoglucomutase. The distribution of variant phenotypes in a village popualtion from the Gambia, West AFrica. *Hum. Genet.,* 43: 307-313.

WEST, R.C. (1957). *The Pacific Lowlands of Colombia: A Negroid Area of the American Tropics.* Louisiana State University Press. Baton Rouge.

WESTERVELD, A., y MEERA KHAN, P., (1972). Evidence for linkage between human loci for 6-phosphogluconate dehydrogenase and phosphoglucomutase, in man-chinese hamster somatic cell hybrids. *Nature.* 236: 30.

WHITEHOUSE, D.B., PUTT, W., LOVEGROVE, J.V., MORRISON, K., HOLLYAKE, M., FOX, M.F., HOPKINSON, D.A., y EDWARDS, Y.H., (1992). Phosphoglucomutase 1: complete human and rabbit mRNA sequences and direct mapping of this highly polymorphic marker on chromosome 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 89: 411-415.

WHITTEN, N.E. Jr. (1974). *Black Frontiersmen. A South American Case.* Schenkman Publishing Company. New York, London, Sydney, Toronto.

WHITTEN, N.E. y FRIEDEMANN, N.S. (1974). La cultura negra del litoral ecuatoriano y colombiano: un modelo de adaptación étnica. *Revista Colombiana de Antropología.* vol. XVII. Bogotá. pp: 89- 115.

WILLCOX, M.C., y BECKMAN, L., (1981). Haemoglobin variants, ßthalassemia and G6PD types in Liberia. *Hum. Hered.,* 31: 339-347.

WILSON, A., CANN, R.L., CARR, S.M., GEORGE, M., GYLLENSTEN, U.B., HELM-BYCHOWSKI, S.R., HIGUCHI, R.G., PALUMBI, S.R., PRAGER, E.M., SAGE, R.D., y STONEKING, M., (1985). Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society*, 26: 375-400.

WILSON, D.E., POVEY, S., y HARRIS, H., (1976). Adenylate kinases in aman: evidence for a third locus. *Ann. Hum. Genet.* 39: 305-313.

WOLF, T., (1879). *Viajes Científicos por la República del Ecuador, 3: Provincia de Esmeraldas.* Guayaquil. (citado en Whitten y Friedemann, 1974).

WRIGHT, S., (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution,* 19: 395-420.

WRIGHT, S., (1969). *Evolution and the genetics of populations. vol. 2. The theory of gene frequencies.* University o Chicago Press. Chicago.

WRIGHT, S., (1973). The origin of the F-statistics for describing the genetic aspects of population structure. In: Morton, N.E., Ed. *Genetic Structure of populations.* University of Hawaii Press. Honolulu. pp: 3-26.

WRIGHT, S., (1978). *Evolution and the genetics of populations. Vol IV: Variability within and among natural populations.* University of Chicago Press. Chicago.

WRISCHNIK, L.A., HIGUCHI, R.G., STONEKING, M., ERLICH, H.A., ARNHEIM, N.,

y WILSON, A., (1987). Lenght mutations in human mitochondrial DNA: Direct sequency of enzymatically amplified DNA. *Nucleid Acid Research*, 15: 529-542.

YOSHIDA, A., (1968). Subunit structure of human glucose-6-phosphate dehydrogenase and its genetic implication. *Biochem. Genet.* 2: 237.

YOSHIDA, A., y BEUTLER, E., (1978). Human glucose-6-phosphate dehydrogenase variants: a supplementary tabulation. *Ann. Hum. Genet.* 41: 347-355.

YOSHIDA, A., y BEUTLER, E., (1983). G-6-PD variants: another up-date. *Ann. Hum. Genet.* 47: 25-38

YOSHIDA, A., BEUTLER, E., y MOTULSKY, A.G., (1971). Table of human glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. *Bull. Wld. Hlth Org.* 45: 243-253.

YOUNG, L.J.S., LEE, E.Y.H.P., TO, H., BOOKSTEIN, R., SHEW, J.Y., DONOSO, L.A., SERY, T., GIBLIN, M., SHIELDS, J.A., y LEE, W.H., (1988). Human esterase D gene: complete cDNA sequence, genomic structure, and aplication in the genetic diagnosis of human retinoblastoma. *Hum. Genet.*, 79: 137-141.

ZAGO, M.A., FIGUEIREDO, M.S., y OGO, S.H., (1992). Bantu β^S cluster haplotype predominates among Brazilian blacks. *Am. J. Phys. Anthrop.*, 88: 295-298.