

POLIMORFISMO GENÉTICO DEL MHC Y SU ASOCIACIÓN CON LA INFECCIÓN HTLV-II

Una herramienta de epidemiología molecular en el análisis de subpoblaciones del caribe colombiano

por

Eduardo Egea MD, MSc*

Resumen

Egea, E.: Polimorfismo genético del MHC y su asociación con la infección HTLV-II. *Una herramienta de epidemiología molecular en el análisis de subpoblaciones del caribe colombiano.* Rev. Acad. Colomb. Cienc. **26**(99): 181-196. ISSN 0370-3908.

Introducción. Las infecciones causadas por los virus que infectan los linfocitos T del humano (HTLV-I y II), parecen tener una distribución geográfica y étnica entre amerindios y otras poblaciones nativas en el mundo. En Colombia existe un foco endémico entre afrocolombianos del litoral Pacífico, no así en la costa del Caribe.

De otra parte, se ha demostrado una distribución geográfica y étnica de las infecciones causadas por estos virus, las cuales, a su vez, se excluyen mutuamente. También se ha descrito que varios grupos nativos de América presentan una alta prevalencia de marcadores serológicos de esta infección.

Objetivo. Este estudio fue realizado con el propósito de investigar la relación existente entre la infección producida por el virus HTLV-I/II y el polimorfismo genómico de los antígenos de leucocitos humanos -HLA clase I y clase II- en tres diferentes grupos étnicos del litoral norte colombiano: wayúus (amerindios que habitan la península de La Guajira), afrocolombianos (habitantes de dos corregimientos Palenque y Barú, de la misma área geográfica colombiana) y mestizos de la ciudad de Barranquilla.

Métodos. La tipificación alélica de los antígenos HLA clase II se llevó a cabo en 41, 75 y 100 muestras de ADN pertenecientes a individuos no relacionados genéticamente, de cada grupo étnico wayúu, mestizo y afrocolombiano, respectivamente, usando la metodología PCR-SSOP. Los alelos HLA clase I se identifican mediante la metodología PCR-SSOP.

* Profesor investigador. Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular, División Ciencias de la Salud, Universidad del Norte. Barranquilla, Colombia (Suramérica). eegea@uninorte.edu.co

Resultados. Las muestras pertenecientes a los mestizos y a los afrocolombianos resultaron negativas. Once sueros de la población wayúu fueron repetidamente reactivas con aglutinación pasiva (PA) y micro elisa (EIA), reconfirmadas usando una prueba de Western Blot (HTLV –Blot, 2.4 Gene Laboratory), y se obtuvo una seroprevalencia al HTLV-II de 7% entre los wayúu.

Los alelos con mayor frecuencia en los wayúu fueron DRB1* 0411 (46%) y DQB1* 0302 (83%). Analizando los haplotipos en los 11 wayúu seropositivos encontramos en todos ellos la expresión del haplotipo HLA DRB1*0411-DQB1*0302, ($p < 0.005$). Ninguno de los 75 mestizos y los 150 afrocolombianos lo expresaron.

Para los antígenos HLA- Clase I, la muestra estuvo representada por 50 ADN de afrocolombianos no relacionados genéticamente; para ello se utilizó la técnica PCR-SSOP. Los siguientes alelos fueron los más frecuentemente expresados: HLA-A 02, A*2301, A*68011/12/02, A* 3001, CW*0302, C*0303, CW*04 y CW*08.

Conclusiones. Los resultados obtenidos sugieren una restricción genética de la susceptibilidad a ser infectado por este virus y podrían explicar la distribución geográfica y étnica de la infección causada por HTLV-II en estos grupos estudiados.

Palabras clave: HLA y HTLV-I, HLA y HTLV-II, HTLV-II infección, Colombia, epidemiología, MHC, PCR-SSOP, serología, HLA DRB1*, HLA-DQB1*, hibridización, polimorfismo.

Abstract

The infection caused by the HTLV-I/II viruses seems to have an ethnic and geographic distribution among Amerindians and other native populations worldwide. In Colombia, an endemic focus has been identified among the Afrocolombian populations inhabiting the south-east coast of the country, but not populations from Caribbean Coast.

A geographic and ethnic distribution of HTLV I and HTLV II infections appears to be mutually exclusive among native populations in the world. Other HTLV-II foci have been previously described among several native Amerindian groups in South America and Colombia. In order to investigate ethnic background of HTLV I/II infections, we conducted this study to associate the ethnic and geographic distributions of HTLV I/II infection to the genetic diversity of HLA. As a result, we analyzed the HLA-DNA polymorphism of DRB1* and DQB1* alleles in individuals from three different ethnic origins: mestizos, amerindians (wayuu) and two afro-colombian population from Palenque Bolivar, an endogamic subpopulation living near to Cartagena de Indias and from Baru a similar populations living in a island in front Cartagena de Indias. We also analyzed the association between the HLA-class I DNA polymorphism of HLA-A* and HLA-C* allele –types and the absence of HTLV-I/II infections among Afrocolombians involved in this study. Sera collected from 157 Wayuu Indians, 100 mestizos and 480 afro-colombians, were screening for HTLV I/II antibodies by using two different techniques: a passive agglutination test (PA, Serodia, Fujirobio, Tokyo) and a micro Elisa test (Murex, Enzyme immunoassay for detecting antibodies against HTLV I/II). All samples belonging to mestizos and afro-colombian people were negative; 11 Wayuus sera were tested by W-B giving us an overall HTLV II seroprevalence of 7%. HLA Class II DNA typing was performed in: 41 unrelated wayuu Indians, 75 mestizos and 100 afrocolombians for HLA-Class II. HLA DNA class I polymorphism was studied in a sample of 50 DNA representative of afro-colombians groups. The most frequent alleles in the wayuu Indians were DRB1* 0411 (46%), and DQB1* 0302 (83%). For HLA-Class I alleles the followings antigens were detective: HLA-A* 02, A*2301, A*68011/12/02 and HLA-A* 3001. For HLA-C* alleles the most frequency expressed were: CW*0302, C*0303, CW*04 and CW*08. These findings suggest a genetic and ethnic restriction of the susceptibility to be infected with this virus and also could explain the geographic and ethnic distribution of HTLV II infection in these groups.

Key words: HLA and HTLV-II, Infection and HTLV-II, Colombian, epidemiology, MHC, PCR-SSOP, serology, HLA DRB1*, HLA-DQB1*, hybridization, polymorphism.

Introducción

La epidemiología molecular se define como una transdisciplina que utiliza el análisis del acervo genético, tanto del hospedero como de un agente patógeno, para identificar factores de riesgo, que estudiados a nivel molecular, contribuyen al estudio de la relación medio ambiente-hospedero-agente patógeno y a la comprensión de la etiología, fisiopatología, y se aplican a la prevención de las enfermedades infecciosas y no comunicables (**Dorman, J.**, 1994). Esta nueva área del conocimiento científico es un espacio transdisciplinario y de frontera entre la tradicional epidemiología y la biología molecular. Uno de los campos de investigación de esta nueva disciplina es la búsqueda de marcadores genéticos de resistencia y/o susceptibilidad en el desarrollo de enfermedades crónicas comunicables. Por ello, en inmunogenética, el análisis molecular de las frecuencias de los antígenos HLA en diferentes subpoblaciones y su asociación con enfermedades infecciosas ha permitido emerger nuevos conocimientos en el campo de la etiopatogenia y la fisiopatología de estas enfermedades transmisibles (**Gorodezky C et al.**, 1994).

1.1. El Sistema genético del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC)

Sus implicaciones médicas y antropológicas

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) es un sistema de genes, los cuales codifican moléculas que proveen el contexto para el reconocimiento de antígenos por los linfocitos T. El MHC ocupa un segmento de 3.500 kb de ADN. Este conjunto génico codifica y controla la síntesis de glicoproteínas ubicadas en la membrana celular, las cuales se expresan en diferentes poblaciones de células inmunocompetentes. Estas glicoproteínas estructurales de membrana constituyen los Antígenos de Leucocitos Humanos -Sistema HLA- y están representadas por tres tipos de productos diferentes, uno del otro, codificados por diferentes clases de genes. Representan un conjunto de loci ubicados en el brazo corto del cromosoma 6, denominados HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-D, HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ. Dentro de este complejo se ubican además los genes de los factores de las proteínas del sistema del Complemento: C2, C4 y Bf, así como los grupos sanguíneos Chido y Rogers. Otros dos loci, Glioxilasa 1 (GLO) y Fosfoglucomutasa 3 (PGM-3), se hallan ligados al sistema HLA (**Robinson & Kindt**, 1989). Es el sistema genético más polimórfico y muchos de sus genes se encuentran en desequilibrio de ligamiento. De otra parte, hoy en día está claro que existen muchos otros genes diferentes a este sistema, que se encuentra muy cerca de los

MHC, formando combinaciones particulares, las cuales, probablemente, contribuyen a la protección y /o al desarrollo de enfermedades humanas (**Risch, N.**, 1990; **Braciale, T.J. et al.**, 1991) La principal función biológica de las moléculas del sistema HLA es el de presentar los péptidos inmunogénicos a los receptores de las diferentes subpoblaciones de los linfocitos T (TcR). Este sistema de reconocimiento es la base molecular de la respuesta inmune adaptativa, la cual protege al organismo y regula la función del sistema inmune. Una de las más características relevantes de los genes MHC es su asociación con enfermedades y su participación en la susceptibilidad o en la resistencia al desarrollo de ellas. De hecho, los genes MHC y sus productos, los antígenos HLA, no son los únicos en este fenómeno biológico. La resistencia y/o protección está determinada por otros sistemas genéticos y/o factores ambientales (**Thorsby, E.**, 1995; **Davies et al.**, 1994). A la fecha, más de 550 entidades clínicas muestran asociación con los genes MHC (**Thorsby, E.**, 1997).

El MHC provee una herramienta de análisis complementario al ADN mitocondrial (mtADN) (**Klein, J.**, 1986). Su alto grado de polimorfismo en poblaciones humanas (**Klein, J. et al.**, 1993) y el hecho de que éste sufra cambios en una forma relativamente lenta (**Imanishi, T. et al.**, 1991) lo hacen el instrumento ideal para identificar marcadores genéticos compartidos por poblaciones relacionadas ancestralmente. Los marcadores del MHC han sido usados para estudiar las relaciones existentes entre grupos étnicos humanos y para identificar migraciones (**Gorodezky, C. et al.**, 1985), incluyendo las de los amerindios (**Cerna, M. et al.**, 1993; **Dueñas Barajas et al.**, 1993), así como para buscar genes de susceptibilidad al desarrollo de enfermedades autoinmunes, alérgicas o infecciosas (**Khare, S.D. et al.**, 1998; **Lara-Márquez, M.L. et al.**, 1999; **McMichael**, 1997; **Rose, N.R.**, 1998).

Otra característica de suma importancia del sistema HLA es la presencia de un desequilibrio de enlace entre alelos de un loci, lo cual se manifiesta en el hecho de que dichos alelos se hereden juntos en forma preferencial. El desequilibrio de enlace génico puede ser consecuencia de la selección natural entre una combinación génica específica. También puede ser debido al hecho de que la población está en un estado de transición y no ha alcanzado aún el equilibrio (**Dubey, D.P.**, 1993). Se ha sugerido que la recombinación de frecuencias depende no sólo de la distancia física entre los alelos sino también de la presencia de regiones que faciliten o inhiban dicho intercambio (**Fernández-Viñas, M. et al.**, 1991; **Stranick, K.S. et al.**, 1990). Estos sitios de recombinación pueden ser identificados a partir del análisis de los haplotipos, y

muestran ser característicos de ciertos grupos de alelos (**Stranick, K.S. et al.**, 1990).

Los alelos de ciertos loci se asocian con más de un alelo de un segundo locus, y en algunos casos muestran inclusión completa indicando un fuerte desequilibrio de enlace; éste es el caso de algunos DQA1 con la mayoría de los alelos DRB1; ésto probablemente se deba a una proximidad física entre estos loci (**Gorski, J.**, 1989). Cuando ciertos alelos DRB1 despliegan más de una asociación con DQA1, se encuentran diferentes asociaciones con DQB1. Estas asociaciones múltiples y similares entre DQA1 y DQB1 se deben a ciertas recombinaciones entre DQA1 y DQB1 que no se dan al azar (**Fernández-Viñas, M. et al.**, 1991). Se ha propuesto que la diversidad de los genes de Clase II se ha generado por conversión genética, mutación y mecanismos de recombinación (**Gorski, J.**, 1989; **Gregersen, P.K. et al.**, 1988; **Hurley, C.K. et al.**, 1989). Si se consideran la homología de la secuencia de ADN y la asociación de los alelos de diferentes loci, se puede postular que algunos haplotipos ancestrales divergieron por conversión génica de forma tal, que se generaron nuevos alelos. Posteriores eventos de recombinación dan lugar a la diversidad de haplotipos (**Gorski, J.**, 1989).

El estudio y el análisis molecular del MHC es una herramienta de gran valor para trazar las migraciones humanas, definir el grado de mestizajes, así como explorar el impacto epidemiológico en las diferentes poblaciones. Los genes que controlan el sistema de HLA son marcadores de la individualidad y representan una ayuda en la genética de poblaciones, para la antropología y en el estudio de aquellas enfermedades con trasfondo genético (**Gjertson, D.W. et al.**, 1998).

1.2. La complejidad de los grupos étnicos colombianos

Colombia es un país cuya población en su carga génica está constituida por un mosaico de grupos étnicos, representados por las diferentes tribus indígenas, cuyos ancestros fueron los primeros pobladores del continente; por afrocolombianos, quienes constituyen el 30% de la población actual, y los mestizos, que representan la mayoría de los colombianos (**Arango, R. & Sánchez** 1988; **Silvera-Redondo, C. et al.**, 2000). La llegada de los españoles en 1492 al continente americano trajo consigo la carga étnica de europeos, con ancestros caucásicos y arábigos, que al cruzarse con los nativos originó el grupo étnico mestizo. Posterior a la conquista europea, los españoles, ante la supuesta debilidad del nativo para el trabajo, desembarcaron en las costas oleadas de esclavos negros provenientes del África, los cuales luego de la abolición

de la esclavitud en 1851 formaron sus palenques en zonas aledañas a la costa. Estos grupos se cruzaron con indígenas, y dieron origen un conglomerado humano conocido como mulato, que se ubicó preferencialmente en los departamentos de los dos litorales, atlántico y pacífico (**Gutiérrez, I.**, 1986).

1.3. La etnia wayúu en la península de La Guajira

La península de La Guajira está localizada al norte del macizo de la Sierra Nevada de Santa Marta, así como de los Montes de Oca y entre el mar Caribe al noroeste y el Golfo de Coquibacoa al este. Los primeros pobladores de la región Caribe fueron cazadores que buscando expansión de sus territorios llegaron a través de Panamá (**Bryan, A. et al.**). Algunos permanecieron en las selvas tropicales del noroccidente de Colombia, otros penetraron los valles andinos, y otros grupos se movilizaron hacia el nororiente, a lo largo de la costa caribe. No se han encontrado vestigios de estos primeros habitantes en La Guajira, dado que hoy en día la mayor parte de las tierras están ocupadas por el mar (**Olier, J.R.**, 1990).

En la península se distinguen dos regiones: la Alta Guajira (*wuinpupun*), hacia el este, y la Baja Guajira (*wopumuin*), hacia el oeste y sudoeste. En la actualidad, estos indígenas no se hallan distribuidos en su territorio tradicional; Nazareth, por ejemplo, posee la más alta densidad poblacional indígena, al igual que los alrededores de Uribia, la serranía de Jala'ala y las sabanas de Wopu'muin y los municipios de Maicao y Manaure (**Vergara, G.O.**, 1990).

Actualmente, sus pobladores, los indígenas wayúu, ocupan un territorio de aproximadamente 15.000 km², de los cuales 12.000 corresponden a Colombia y comprenden los municipios de Maicao, Uribia y Manaure, Bahía Portete, Nazareth y Puerto Estrella. Los 3.380 km² restantes, pertenecen al Distrito Páez, Estado Zulia, Venezuela (**Vergara, G.O.**, 1990).

El primer contacto de los indios americanos con europeos no ocurrió sino hasta 1492, cuando Colón descubrió a América; sin embargo, algunos investigadores sugieren que hubo viajes de grupos europeos altamente civilizados de Europa, Asia y África antes de ese primer contacto con los europeos. No obstante, a partir de la llegada de los españoles a la isla Hispaniola (hoy República Dominicana) se generó lo que históricamente se conoce como la Conquista. Los recién llegados encontraron indígenas con culturas diversas, y en su afán evangelizador, así como tentados por las riquezas que ofrecían las nuevas tierras, empezaron paulatinamente con un programa devastador

para los indígenas, que fueron diezmados o transcultu-
turizados (**Gorodezky, C.**, 1995).

1.4. Sinopsis histórica de la migración y el asentamiento de etnias africanas en Colombia

Una de las consecuencias más importantes de la conquista de América por parte de los imperios europeos fue la migración masiva y forzosa de millones de africanos trasladados al continente americano para desempeñarse como mano de obra en toda clase de actividades productivas. En casi cuatro siglos (1492-1898), 14 millones de hombres y mujeres, según los cálculos más conservadores, fueron conducidos desde el África a América en condición de esclavos. A raíz de la prohibición de esclavizar indígenas, decretada por la corona española en todo el Nuevo Mundo, se estableció la trata de negros africanos, los cuales eran traídos principalmente de las remotas posesiones portuguesas del África Ecuatorial, procedente de las sociedades Fanti, Ashanti, Bakongo, Herero y Kromati (**Lemaitre, E.**, 1983).

Fue durante el siglo XVII que Cartagena, y Veracruz (México) se convirtieron en puertos habilitados en todo el Caribe para la introducción de esclavos y los más grandes mercados negreros del Nuevo Mundo. Desde Cartagena, se distribuían estos esclavos hacia Venezuela, las Antillas, el Nuevo Reino de Granada y Perú, que era donde más demanda había para el trabajo de las minas. El conocimiento de la composición genética y los lugares de origen de los descendientes de la población negra africana que ingresó a América durante el comercio de esclavos en los siglos XVI y XIX, reviste interés científico por sus repercusiones históricas, sus implicaciones antropológicas y médicas. Esta información se ha obtenido tradicionalmente a través de investigaciones socioantropológicas y lingüísticas hechas tanto en América como en África. En los últimos años dicha estrategia se ha fortalecido con la búsqueda de marcadores genéticos, especialmente del sistema de antígenos de histocompatibilidad del humano (HLA), efectuada también en poblaciones de ambos continentes. Según el exhaustivo estudio del filólogo e historiador Nicolás del Castillo, durante la mayor parte del siglo XVI hubo un predominio de esclavos de Guinea, Cabo Verde y Sierra Leona, al noroccidente de África centrooccidental, es decir, las minas de Araras y Carabalis. Los esclavos rebeldes se escapaban. Muchos crearon comunidades independientes en lugares escondidos y aislados llamados palenques; uno de ellos lo constituye Barú y el otro San Basilio de Palenque. Todavía estos grupos preservan su identidad y poco intercambio genético. Ellos proveen un buen modelo para estu-

dios evolutivos entre poblaciones africanas y afroamericanas (**Kelin, H.**, 1986).

1.5. Algunos aportes de la antropología y la arqueología genética

La arqueología genética y las evidencias lingüísticas sugieren que en la población del nuevo continente ocurrieron por los menos tres olas migratorias (**Greenberg, J. et al.**, 1986; **Salzano, F. et al.**, 1988). Estas se identifican como: la migración paleoindia, la Na-denne y la Skimo-Aleut; la más antigua y con mayor expansión geográfica es la Paleo-India, cuyos descendientes llegaron a poblar la mayor parte del continente americano. Las últimas migraciones generaron principalmente el asentamiento de poblaciones en Norteamérica (**Salzano, F. et al.**, 1988).

Evidencias arqueológicas y genéticas ubican el establecimiento del hombre americano en el continente en el periodo mesolítico, hace 20.000 a 40.000 años. Se sitúa en esta época la ocurrencia de la primera migración a través del estrecho de Behring utilizando como puente natural las islas Aleutianas. A partir de esta migración, denominada paleoindia, se produjo un movimiento de individuos descendientes de estos primeros colonizadores hacia las tierras más bajas del continente americano, lo cual permitió el asentamiento de las migraciones en América del Norte, Centro y Sur América, constituyendo la mayoría de los nativos americanos (**Greenberg, J. et al.**, 1986; **Williams, RC. et al.**, 1985). Esta migración se produjo con anterioridad a la evolución del tipo mongoloide especializado de Siberia y fue la que aportó la mayor parte de la población del nuevo mundo (**Sanders, WT. & Marino, 1969**). A partir de ella se originaron grupos lingüísticos bien definidos como Macro-caribe-ge, Macro-arawak, Macro-quechua y Macro-maya. La segunda migración se calcula que ocurrió hace 7.000 a 15.000 años y en ella arribó el tipo mongoloide al continente americano, trayendo a los hoy catalogados como Nadenne. Posterior a ésta se produjo el último movimiento migratorio hace 3.000 a 5.000 años conocido como Skimo-Aleut (**Schobinger, J.**, 1969).

La evidencia genética que sostiene la veracidad de la existencia de múltiples olas migratorias ha sido principalmente obtenida a través del análisis de ADN mitocondrial (mtADN) y la variación de la región D-loop. Los datos que se tienen acerca del mtADN sugieren la presencia de cuatro haplogrupos entre los amerindios (**Horai, S. et al.**, 1993; **Merriwether, D.M. et al.**, 1995). Sin embargo, el estudio del mtADN deja por lo menos dos preguntas abiertas. Primero: ¿Cómo es que individuos pertenecientes a diferentes olas migratorias pueden compartir los cuatro tipos de

mtADN?, y segundo: ¿Pueden ser identificados los grupos étnicos que fueron la fuente de las migraciones? Debido a que las regiones D-loop evolucionan rápidamente, no está claro hasta qué punto las variaciones de los mtADN observadas en los amerindios expliquen las migraciones en América. Del análisis de los haplotipos del mtADN de Siberia se revelan algunas afinidades con haplotipos amerindios, pero éstas son insuficientes para identificar fuentes siberianas para cada uno de los haplotipos (Salzano, F. *et al.*, 1988).

1.6. La asociación de la infección por los virus HTLV-II con la migración ancestral de los amerindios

Los virus que infectan los linfocitos T humanos HTLV-I/II se encuentran estrechamente relacionados con los oncovirus en la familia *retroviridae* (Wong-Staal, F. & Gallo, R.C., 1985). En contraste con el conocimiento que se tiene acerca de la infección por HTLV-I, es poco lo que se conoce en relación de la historia natural y la patogénesis del HTLV - II (Tajima, K. & Inhumu, Y., 1992). El origen de los virus y las vías de diseminación de estos alrededor del mundo aún están por aclararse. Algunos estudios iniciales conllevaron a la presunción científica de que el HTLV-I era un virus proveniente del Viejo Mundo y que el HTLV-II era originario del continente americano (Hjelle *et al.*, 1993; Biggar, R.J. *et al.*, 1992). Sin embargo, resultados de investigaciones recientes, en las cuales se encontraron focos de infecciones por HTLV-II en los pigmeos del Zaire, en habitantes de Camerún y en varios países de centro y del oeste africano, han generado dudas científicas a cerca del origen de este último virus (Goubau, P. *et al.*, 1993; Gessain, A. *et al.*, 1994).

La infección por HTLV-I es endémica en Malasia, Japón, el Caribe y el África Sub-sahariana (Kaplan, J.E. & Khabbaz, R.F., 1993). Los estudios de seroprevalencia han demostrado que la infección por HTLV-II además de ser endémica en los amerindios está presente en otras subpoblaciones tales como en drogadictos de los Estados Unidos de Norteamérica, Italia, España, Francia, Noruega e Inglaterra (Hjelle *et al.*, 1993).

Desde que fue descubierta la infección viral de los linfocitos T humanos causada por los virus HTLV -I y HTLV-II, varios estudios epidemiológicos han demostrado una alta prevalencia de infección por el virus del HTLV - II en amerindios de Norte, Centro y Sur América (Dueñas-Barreras, E. *et al.*, 1993). La teoría que sostiene que el HTLV-II es un nuevo virus originario del continente americano podría ser explicada, en parte, por el hecho de que varios grupos nativos en el Nuevo Mundo presentan una alta seroprevalencia de esta infección. Esto se ha identificado

entre las poblaciones navajo de Nuevo México, seminola de la península de La Florida (Levine, P.H. *et al.*, 1993), guayami de Panamá (Reeves, W.C. *et al.*, 1990), cayapo y kraho de Brasil (Maloney, E.M. *et al.*, 1992), e inga y emberra-waunana y wayúu de Colombia (Zaninovic, V. *et al.*, 1994; Egea, E. *et al.*, 1999). Estos últimos pertenecientes a la familia lingüística de los arahuacos y a familias chibchas. Estos hallazgos fundamentan el criterio de que esta infección viral es ancestral, y la susceptibilidad a ella probablemente está determinada genéticamente. La demostración de la alta endemicidad de la infección por HTLV- II en los indígenas de América, contrasta con evidencias actuales que demuestran la ausencia de la misma en la región Norte de Siberia. Contrastan estos hallazgos con el hecho de que la infección por HTLV-II está presente en los grupos de Mongolia y en el sudeste de Siberia (Neel, J.V. *et al.*, 1994).

1.7. Asociación de HLA y la infección por los virus HTLV-I/II

Desde los primeros años de la década de los setenta se conoce que la linfoproliferación espontánea de linfomononucleares de sangre periférica provenientes de pacientes infectados por el virus HTLV-II se encuentra influenciada y modulada por las moléculas HLA-DR de estos linfocitos infectados y que anticuerpos mononucleares contra estos antígenos son capaces de inhibir dicha proliferación (Lal, R.B. *et al.*, 1992).

También se conoce que las diferentes manifestaciones clínicas producidas como resultado de la infección por el HTLV-I (mielopatía asociada a la infección por HTLV (HAM) y paraparexia espástica tropical (TSP)) sólo se presentan en el 1-2% de los individuos infectados. Se postula que la susceptibilidad al desarrollo de HAM/TSP pudiera depender de la inmunocompetencia del hospedero y, por consiguiente, estaría modulada y regulada por el polimorfismo de los genes MHC. Con relación a lo anterior se ha descrito una asociación entre la expresión del antígeno HLA-A*02 y una carga viral baja en individuos seropositivos para HTLV-I en poblaciones japonesas. Estudios posteriores llevados a cabo en la misma población mostraron que los individuos que expresan HLA-A* 02 y/o HLA-A* 08 tienen menos riesgo relativo de desarrollar HAM / TSP. En las personas seropositivas para HTLV-I a quienes se les ha documentado una permanente carga viral baja se ha evidenciado una heterozigocidad entre los tres locis de los antígenos HLA clase- I, lo que ha conllevado a hipotetizar que existe una influencia de los antígenos HLA clase I en la susceptibilidad y el desarrollo de las enfermedades inflamatorias producidas por este virus. Este

proceso biológico estaría dado por una respuesta de linfocitos T citotóxicos (Jeffery, K.J., 2000).

Zaninovic y col. y Fujiyama y col. demostraron que las infecciones producidas por los virus HTLV I/II se encontraban en los habitantes de las alturas de los Andes y de las planicies del valle del río Orinoco en forma endémica, y que estas infecciones se excluían mutuamente. Posteriormente Toshinobu y col. demostraron una restricción étnica y geográfica de las infecciones por los virus HTLV-I y HTLV-II en los amerindios y que esta restricción estaba asociada con los haplotipos HLA-DR y HLA-DQ (Fujiyoshi, T. *et al.*, 1995).

Este estudio fue realizado con el propósito de investigar la relación existente entre la infección producida por los virus HTLV-I y HTLV-II y el polimorfismo genómico de los antígenos HLA clase II en tres diferentes grupos étnicos del litoral norte colombiano: El primero de ellos, los wayúus, (amerindios), habitan la península de La Guajira; el segundo grupo, los afro-colombianos estudiados, son habitantes de Palenque y Barú, corregimientos cerca al municipio de Arenal (Bolívar) y a la ciudad de Cartagena de Indias, ambos pertenecientes a la misma área geográfica del litoral caribe colombiano; el tercer grupo étnico estudiado fueron los mestizos de la ciudad de Barranquilla. La distribución y prevalencia de esta infección en el litoral norte de Colombia no había sido bien estudiada.

Los resultados encontrados en este estudio fueron muy significativos. La frecuencia genética con que se expresan los alelos HLA clase I y clase II y la frecuencia de los haplotipos HLA-DR / DQ, en particular en el grupo de los indígenas infectados, son similares a los resultados obtenidos en estudios de asociación de este grupo de genes en sujetos infectados, representativos de poblaciones asiáticas, africanas y del Nuevo Mundo (Petzl-Erler, M.L., Gorodezky, C., Layrisse, Z., Klitz, W., Fainboim, L., Vullo, C., Bodmer, J.G., Egea, E., Navarrete, C., Infante, E., Alaez, C., Olivo, A., Debaz, H., Bautista, N., Rosa, G. de la, Vazquez, M.N., Navarro, J.L., Pujol, M.J., Duran, C., Schafhauser, C., Garavito, G., Ángel, L. *et al.* 1997). Nuestros resultados sugieren que factores étnicos y genéticos restringen la susceptibilidad al desarrollo de esta enfermedad en estos grupos étnicos estudiados. Además confirman estudios previos llevados a cabo por nuestro grupo (Egea E, *et al.* 1999) y por otros investigadores en relación con el origen ancestral de los indígenas de esta área de Colombia, y los ubican en la región de Mongolia, Manchuria, el extremo sudeste de Siberia (Neel, J.V. *et al.*, 1994).

2. Materiales y método

2.1. Población a Estudiar

En este estudio se analizaron un total de 1.577 muestras biológicas (sueros) pertenecientes a tres diferentes grupos étnicos asentados en el litoral caribe. De ellos, 840 fueron mestizos, mezcla poblacional que habita en el casco urbano de la ciudad de Barranquilla, localizada al norte de Colombia; 580 afrocolombianos, ubicados en Barú y Palenque, pertenecientes a la misma área del Caribe colombiano, y 157 amerindios wayúus, habitantes del Cabildo de la Paz, asentamiento en la península de La Guajira. Todos los individuos que ingresaron a este protocolo fueron informados previamente de los objetivos del proyecto, y se obtuvo, así mismo, de cada uno de ellos su consentimiento en un formato establecido en el protocolo del estudio.

También se obtuvieron muestras de ADN de los sujetos involucrados en este estudio. Un total de 41 muestras de ADN de amerindios, 61 de mestizos y 150 de afrocolombianos se utilizaron para el estudio inmunogenético de estas subpoblaciones étnicas. Estos sujetos no se encontraban relacionados familiarmente y fueron escogidos al azar.

Las muestras de sangre obtenidas fueron colocadas inmediatamente a 4° C, para luego ser transportadas a las instalaciones del Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular de la Universidad del Norte, donde fueron separadas, alicuotadas y almacenadas a -40 C° hasta el momento en que fueron sometidas a las pruebas correspondientes.

La obtención de las muestras de suero y de ADN incluidas en este estudio formó parte del trabajo de investigación del componente antropológico de la 12ª. Conferencia Internacional de Histocompatibilidad (12 IHWS) (Pertz-Erler M.L. *et al.* 1996) y del VI Taller de la Sociedad Latinoamericana de Histocompatibilidad y Transplante (Martínez, B., Blank, M., Egea, E., Garavito, G. *et al.*, 2000).

2.2. Pruebas serológicas

Las muestras fueron inicialmente sometidas a tamizaje serológico por triplicado, con el objeto de identificar anticuerpos IgG contra los virus HTLV-I /II. Esto se hizo con la prueba de aglutinación pasiva (PA-Serodia HTLV I/II-Fujirebio, Tokio, Japón). Todas las muestras de suero también fueron estudiadas usando microelisa (*Murex Diagnostics*), y aquellas que resultaron positivas fueron reconfirmadas con la prueba *Western Blot* (WB) específica para HTLV-I/II. Inicialmente estas muestras fueron evaluadas utilizando la técnica de Proplot HTLV-I; Fujirebio,

Japón. Todas las muestras que mostraron reactividad a las glucoproteínas P24 y P19 fueron consideradas positivas para HTLV-I. Para determinar si la infección fue causada por HTLV-II, se utilizó una prueba diferencial de *Western Blot*: Gene Labs, WB 2.4, USA; ésta incluye una proteína recombinante HTLV-II gp46-II, la cual es una proteína única recombinante de la cápsula del virus HTLV-II.

2.3. Oligotipificación genómica de los antígenos HLA clase I

2.3.1. Extracción y estandarización del ADN

El ADN se obtuvo mediante el procedimiento del *salting out*, procedimiento de extracción de ADN humano de leucocitos de sangre periférica (Pertzl-Erler *et al.*, 1996). La concentración de ADN estandarizada para la amplificación fue de 5 µg/ul.

2.3.2. Tipaje molecular de los antígenos HLA clase I

2.3.2.1. Amplificación del DNA por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se realizaron las amplificaciones según los protocolos establecidos en el *VI Taller Latinoamericano de Histocompatibilidad en Cartagena en 1998* (Martínez, B. *et al.*, 2000). La única modificación fue el adicionarle DMSO a la mezcla de la master mix de la PCR.

2.3.2.2. Dot blot y marcaje de las sondas

Los productos obtenidos por PCR y que luego fueron confirmados como positivos por electroforesis se transfirieron en membranas (Boehringer Mannheim) y luego fueron fijadas con luz UV (*cross linked*). Las sondas fueron marcadas con 11-digoxigenina-UTP de acuerdo con el protocolo establecido (Middleton *et al.*, 1995; Middleton, D. *et al.*, 2000).

2.3.2.3. Prehibridización e hibridización

Después de ser prehibridizadas las membranas se les adicionó luego las sondas y se incubaron toda la noche. Luego fueron sometidas a los lavados de astringencia recomendados en el Protocolo del *VI Taller Latinoamericano de Histocompatibilidad*; la hibridización se visualizó usando el procedimiento de quimioluminiscencia. Las membranas fueron humedecidas por rotación en el Buffer 1. Luego se incubaron con una solución Bloqueadora (Blocking Reagent, Boehringer Mannheim), a diferentes temperaturas, según el protocolo lo sugería (una temperatura para cada sonda). Se adicionó un anticuerpo Anti-Dig, y luego de este procedimiento se incubaron por una hora. Seguidamente se le adicionó CSPD (Boehringer

Mannheim) y se incubaron por 5 minutos. Más adelante se expusieron a filmas X-ray Kodak x-OMAT KXX-1 (Middleton *et al.*, 1995; Middleton, D. *et al.*, 2000).

2.4. Oligotipificación genómica de los antígenos HLA clase II

2.4.1. Tipaje molecular de los antígenos HLA clase I

Los locis HLA-DRB1*, DQB1* se tiparon utilizando las técnicas descritas en el protocolo del taller: 12 IHWS. La amplificación genómica (PCR-SSOP) se llevó a cabo utilizando el grupo de iniciadores definidos por este taller, en breve: 0.5 µg de ADN genómico en un volumen de 100 µl se utilizó para cada amplificación específica y se sometió a 30 ciclos de PCR en un termociclador (PTC - 100™, MJ Research Inc). Las condiciones de la amplificación se llevaron a cabo de acuerdo con las referencias del protocolo. Un grupo de dieciocho muestras de ADN distribuidas por el workshop y diez muestras de DNA locales seleccionadas sirvieron como controles para la oligotipificación de los locis HLA-Clase-II estudiados. Rutinariamente, los productos de PCR obtenidos fueron evaluados por electroforesis en gel de agarosa al 1%. La hibridización de los productos de PCR se llevó a cabo sobre membranas de nylon (Hybond, Amersham International, UK). Posteriormente, fueron inmovilizadas por desnaturalización alcalina usando una solución de hidróxido de sodio 0.4 N, seguido por una neutralización con SSPE 10X durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las membranas fueron prehibridizadas durante una hora, y fueron colocadas durante 10 minutos en el buffer de hibridización recomendado por el protocolo a 54 °C. Posteriormente, fueron nuevamente hibridizadas con sondas marcadas con digoxigenina-ddUTP obtenidas de Boehringer Mannheim, y la detección se llevó a cabo por quimioluminiscencia, utilizando para ello antidigoxigenina marcada con fosfatasa alcalina. Finalmente, se lavaron en 2X SSPE, y posteriormente se expusieron a una película de rayos X a temperatura ambiente, y la autorradiografía fue interpretada de acuerdo con los grados definidos por el protocolo del workshop.

2.5. Análisis estadístico

La recolección de los datos provenientes de cada uno de los pacientes fue sentada en un registro individual creado para tal efecto, en el cual estuvieron incluidos todas las variables consideradas en el estudio. Los resultados individuales fueron recolectados en un banco de datos diseñado y elaborados utilizando las siguientes programas "Filemaker 2.0", el BMDP 1.0 para windows y el Epiinfo Versión 6. Se utilizó un microcomputador Compaq Deskpro con procesador Intel Celeron con 64 MB Ram.

El análisis estadístico de cada antígeno en una población dada permite evaluar si hay diferencias entre las poblaciones estudiadas. Las comparaciones se hicieron para cada antígeno HLA entre la población sana y enferma; para ello se calcularon los siguientes parámetros:

2.5.1. Frecuencia antigénica o alélica (FA)

Es la proporción de sujetos del total que son portadores de un determinado antígeno. Se calcula en porcentajes. La estimación de este parámetro se hace contando el número de veces que un alelo dado aparece en una población, dividiendo por el número total de alelos encontrados en esa misma población y multiplicando por 100.

$$FA = (a/N) \times 100$$

a = Número de veces que aparece un determinado alelo en la población en estudio

N = Número total de alelos presentados en la población en estudio

2.5.2. Frecuencia génica

Se calcula a partir de la FA. Esta se toma en números absolutos mediante la fórmula de Haldane y multiplicando por 100:

$$FG = 1 - \sqrt{1 - FA}$$

A = FA en números absolutos, Ej: si la FA = 12.7% A = 0.127

La significancia estadística de la asociación del alelo HLA -DQB1* 0302 se calculó mediante una prueba del Chi cuadrado (X^2) con base en una tabla del 2 X 2.

Con el propósito de analizar una posible relación entre las cargas génicas de nuestros grupos afrocolombianos y africanos residentes en el occidente de África, se hizo un análisis comparativo de las frecuencias alélicas entre los antígenos HLA clase I que tuvieron una mayor frecuencia de expresión y las frecuencias previamente descritas de aquellas subpoblaciones africanas. Para ello, se utilizaron los datos publicados en *XII Taller Internacional de histocompatibilidad* (Pertz-Erler M.L. et al. 1996).

3. Resultados

De las muestras de sueros pertenecientes a los 840 mestizos y de los 580 sueros afro-colombianos, ninguna resultó positiva para la infección causada por HTLV-I y HTLV-II. Siete de ciento cincuenta y siete muestras pertenecientes a los indígenas wayúus resultaron positivas, todas ellas fueron evaluadas por *Western Blot* y todas evidenciaron un patrón perteneciente al del virus HTLV-II (tabla 1).

En la población estudiada de amerindios wayúus (41 sujetos), los alelos HLA-DRB1* más frecuentes fueron: DRB1* 0411, el cual se expresó con frecuencia génica 0.259; y DRB1*0407, con frecuencia génica 0.173. El polimorfismo de DQB1* se encontró restringido, y sola-

Tabla 1. Distribución y frecuencia del Alelo HLA-DQB1* 0302 en tres grupos étnicos del caribe colombiano y su asociación con la seropositividad para HTLV-II.

GRUPO ÉTNICO Suero	NÚMERO DE CASOS SEROLÓGICAMENTE POSITIVOS (%)				F.G. HLA-DQB1*0302	
	No. ADN	PA	Microelisa	W-B RPG-46I (*)		W-B RGP-46II (**)
WAYÚU 157 41		7%	7%	0	7%	0.480
MESTIZOS 84 75		0%	0	0	0	0.125
AFROCOLOMBIANOS 580 100		0%	0	0	0	(-)

(*) Específico para HTLV-I

(**) Proteína específica del HTLV-II.

mente tres alelos se expresaron, siendo los de mayor frecuencia genética: DQB1*: 0302 (0.480), 0402 (0.289) Y 0301 (0.135) (tabla 2).

Es relevante el hecho de que todos los 10 wayúu que resultaron ser portadores asintomáticos del virus HTLV II expresaron el alelo genómico HLA DQB1 0302. Sin embargo, en el grupo de los amerindios seronegativos (Neel, J.V. *et al.*, 1994) este alelo también se expresó (Frecuencia alélica 77.4 %) ($p = 0.05$) (tabla 3). No hubo asociación significati-

va entre los alelos DRB1* y los wayúu portadores de HTLV-II. El alelo HLA DQB1*0302 no se expresó en ningún individuo del grupo étnico afrocolombiano estudiado, y la frecuencia de expresión de este alelo no tuvo una significancia estadística en la población mestiza ($FG = 0.125$ comparada con la de los amerindios de 0.480 (tabla 2). En los indígenas wayúu, el haplotipo DRB1* 0411 DQB1* 0302 fue el más frecuente (80%), seguido por 0403 - 0302 (37%). Este haplotipo no se expresó en la población de afrocolombianos y no fue significativa en los mestizos (tabla 3).

Tabla 2. Frecuencia génica de los Alelos HLA DRB1* Y DQB1* que se expresan con mayor frecuencia en tres diferentes grupos étnicos del área caribe colombiana y su asociación con la infección por HTLV-II

	MESTIZO N=61	WAYÚU N=41	AFROCOLOMBIANO N=100	HTLV-II
ALELO DRB1*				
0401		0.040		(-)
0403	0.016	0.015		(+)
0404		0.020		(-)
0405		0.020		(-)
0407		0.173		(+)
0411		0.259	0.006	(+)
11	0.123			(-)
1501	0.057	0.060	0.050	(-)
1602	0.130	0.014	0.0006	(-)
ALELO DQB1*				
0201	0.176	0.019	0.078	(-)
0301	0.223	0.135	0.050	(-)
0302	0.125	0.480		(-)
0402	0.047	0.289		(-)
0602	0.0105		0.020	(-)

1. Datos modificados del XII Taller Internacional de histocompatibilidad y trasplante (Petzl-Erler, ML., Gorodezky, C., Layrisse, Z., Klitz, W., Fainboim, L., Vullo, C., Bodmer, JG., Egea, E., Navarrete, C., Infante, E., Alaez, C., Olivo, A., Debaz, H., Bautista, N., Rosa, G. de la, Vázquez, MN., Navarro, JL., Pujol, MJ., Durán, C., Schafhauser, C., *et al.*)

Tabla 3. Distribución y frecuencia de algunos Haplotipos HLA-DRB1* DQB1* entre amerindios portadores del virus HTLV-II. Comparación con los otros grupos estudiados

Haplotipo DRB1*-DQB1*	WAYÚU(+) N=10	WAYÚU(-) N=3	AFROCOLOMBIANO N=100	MESTIZOS(-) N=75
0401-0302	(-)	2(5%)	(-)	(-)
0403-0302	3(30%)	7(7%)	(-)	(-)
0404-0302	(-)	1(2.5%)	(-)	(-)
0407-0302	2(20%)	5(12.5%)	(-)	(-)
0411-0402	(-)	9(22.5%)	(-)	(-)
0411-0302	5(50%)	12(30%)	(-)	(-)
1501-0602	(-)	2(5%)	6(7.5%)	(-)
1602-0302	(-)	2(5%)	(-)	(-)

(+) = Seropositivos (-) = Seronegativos N = Número de individuos estudiados

* Los haplotipos DRB1*/DQB1* 0403-0302, 0407-0302, 0411-0302 asociados a la seropositividad para HTLV-II, no se expresan en los grupos afrocolombianos y mestizos.

Se destaca que estos haplotipos incluyen el alelo HLA-DQB1* 0302.

En relación con la oligotipificación de los antígenos HLA clase-I en los 50 afrocolombianos del corregimiento de Santana del municipio de Pasacaballo en la isla de Barú, se encontró que entre los alelos del loci HLA-A* los más frecuentemente expresados fueron el: HLA- A* 02, HLA-A*2301, HLA-A*6801, HLA-A30. Para el Loci HLA-C, los que más se expresaron fueron: HLA- CW*0302, HLA-CW*0303. HLA-CW*0403, HLA-CW*01, HLA-CW*07, HLA-CW*08 y HLA-CW*15. Los antígenos HLA-CW*0302, 0303 y HLA-CW*08 fueron los que más frecuentemente se expresaron (Tabla 5).

El análisis comparativo de las frecuencias alélicas entre afrocolombianos de la isla de Barú y las tres subpoblaciones del occidente africano utilizadas, permiten sugerir que los ancestros de las poblaciones afrocolombianas de la Costa Caribe provienen del África occidental (Tabla 6).

4. Discusión

La infección por los virus HTLV I y II está distribuida alrededor de todo el globo terráqueo, siendo endémica en

Tabla 4. Antígeno HLA-DQB1*0302 en amerindios Wayuu seropositivos PARAHTLV-II y otros grupos étnicos. su asociación con la seropositividad para HTLV-II

P	AFROCOLOMBIANOS (-)	WAYÚU (+)	MESTIZOS (-)	P
	N = 100	N = 10	N = 75	
0.0001	0%	100 %	0%	0.0001

N= Número de individuos estudiados

Tabla 5. Frecuencia génica de los Alelos HLA-A* Y HLA-C* más frecuentemente expresados en una muestra de una subpoblación afrocolombiana con ausencia de anticuerpos anti HTLV-II/I.

ALELOS HLA-A*	FRECUENCIA GÉNICA N=100	ALELOS HLA-C*	FRECUENCIA GÉNICA N=100
A*01	0,00522	C*0302	0.1912
A*0102	0,01575	C*0303	0.0342
A*02	0,04803	C*0304	0,0048
A*0201	0,01047	C*0403	0,0194
A*0203	0,00522	C*0602	0,0048
A*0205	0,00522	C*0702	0,0048
A*0214	0,03175	C*0704	0,0048
A*03	0,00522	C*1203	0,0048
A*0301	0,01575	C*1504	0,0096
A*1101/02	0,01575	C*1601	0,0096
A*2301	0,07017	C*1602	0,0048
A*2402/03/05	0,02639	C*01	0,0146
A*2404	0,00522	C*04	0,0444
A*2406	0,01047	C*07	0,0645
A*2407	0,00522	C*08	0,0243
A*2501	0,01575	C*15	0,0594
A*68011/012/02	0,04803	C*16	0,0146
A*6901	0,01575	C*17	0,0096
A*2901/02	0,01047		
A*3001	0,03175		
A*3002	0,01047		
A*3004	0,02105		
A*31012	0,01047		
A*3301/03	0,02105		
A*3401	0,00522		
A*3402	0,00522		
A*6601	0,01575		
A*7401	0,01575		

N= Número de alelos estudiados

Tabla 6. Análisis comparativo de frecuencias alélicas en afrocolombianos de la Isla Barú negativos para HTLV-II con tres subpoblaciones del occidente de África

ALELOS HLA-A*	GRUPO ÉTNICO				
	AMÉRICA		ÁFRICA (*)		
	AFROCOLOMBIANOS		MOSSI N=53	RIMAIBE N=47	FULANI N=49
	N=100	F. ALÉLICA			
A*02	A*02	0.09375	0.037736	0	0
A*0207			0	0	0
A*23	A*2301	0.013542	0.09434	0.170213	0.132653
A*6801	A*68011/012/02	0.09375	0.09434	0.053191	0.030612
A*30	A*3001	0.07292	0.028302	0.021277	0.020408
CW*02			0.113208	0.095745	0.22449
CW*0302	CW*0302	0.3460	0.018868	0.010638	0.020408
CW*0303	CW*0303	0.0673	0	0	0
CW*04	CW*04	0.0870	0.226415	0.255319	0.071429
CW*0701/02/03	CW*07	0.1250	0.113208	0.148936	0.173469
CW*0704	CW*07	0.1250	0	0	0.010204
CW*08	CW*08	0.0481	0.037736	0.010638	0.020408
CW*15	CW*15	0.1154	0.028302	0.021277	0

Data del VII Taller Latinoamericano de Histocompatibilidad. Cartagena de Indias. Publicado en: 26 th Annual Meeting American Society for Histocompatibilities and Immunogenetics.

(*) HLA in sub-Saharan Africa; 12th International Histocompatibility Workshop SSAF report M.G. Hammond, et al. Pg. 345. Vol I. "Genetic Diversity of HLA Functional and Medical Implication", Dominique Charron.

el continente africano y en algunas regiones de norte y sur de América. Los porcentajes de prevalencia varían de 0 a 10% dependiendo de la región estudiada. Aunque el origen de los virus se considera que está ubicado en nichos ecológicos en África, esto necesita de estudios posteriores para su confirmación (**Igarashi, T. et al.**, 1993).

En Colombia se han descrito focos endémicos de la infección por HTLV-I en comunidades de afro-colombianos de la región pacífica asentadas en Tumaco, Buenaventura y Cali. De otra parte, la infección con el virus HTLV-II ha sido detectada en varios grupos de amerindios tanto en el litoral caribe como en otras regiones del centro y sur del país (**Dueñas-Barajas, E. et al.**, 1993).

La discusión acerca del origen de la primera ola migratoria hacia el continente americano a través del estrecho de Behring y la ruta que ellos tomaron en el este asiático ha intrigado a muchos científicos (**Greenberg, J. et al.**, 1986; **Cavalli-Sforza, L.**, 1991). En los últimos años, los resultados de varias investigaciones han arrojado algunas luces al respecto. En una de ellas se ha demostrado que el retrovirus HTLV-II está ampliamente distribuido entre los amerindios, y se presume que este virus haya tenido su origen en el Viejo Mundo. De otra parte, el virus se ha encontrado presente en poblaciones nativas propias de Mongolia, concretamente en tres tribus de la región ante-

riormente llamada República Mongólica. En este grupo de nativos, el polimorfismo del mtDNA (mitocondrial) es el perteneciente al haplotipo B, el cual es el mismo descrito en amerindios. Es necesario resaltar la ausencia de este virus en la región norte del este siberiano, donde el haplotipo B del polimorfismo del ADN mitocondrial (mtDNA) está ausente (**Neel, J.V. et al.**, 1994).

Un segundo aporte, es el reconocimiento de que los estudios del polimorfismo del ADN mitocondrial ofrecen una herramienta de valiosa información en los estudios de la genética de población (**Katahira, Y. et al.**, 1995). En este orden de ideas se sugiere que los ancestros de la primera ola migratoria hacia el Nuevo Mundo se originaron en la región central del este asiático, en una región llamada sudeste siberiano extremo, Mongolia / Manchuria (**Neel, J.V. et al.**, 1994).

Con respecto a la presencia de HTLV-II en los amerindios –38 tribus aproximadamente examinadas hasta el momento– se afirma que en ellos la infección causada por el virus es endémica, y su amplia distribución implica que esta infección es muy antigua en estos grupos. Actualmente existe evidencia acumulada de que todas estas tribus en las cuales la infección por el virus HTLV-II ha sido documentada se pueden clasificar como paleoindios. De otra parte, las distribuciones étnica y geográfica de la infección cau-

sada por los virus HTLV-I / II se comportan como situaciones mutuamente excluyentes, fenómeno evidenciado en poblaciones nativas en varias partes del globo terráqueo. Los focos de infecciones causadas por HTLV-I son particularmente relevantes entre subpoblaciones de japoneses, habitantes tapúas de Nueva Guinea y amerindios, así como afro-caribeños y otros grupos negroides del Nuevo Mundo (Levine, P.H. *et al.*, 1993; Cleghorn, E. *et al.*, 1990; Navas, M. *et al.*, 1995). En Suramérica se ha descrito la infección por HTLV-II en habitantes de los Andes y del Valle del Orinoco en Suramérica, lo que ha permitido sugerir que la presencia de estas infecciones puede estar asociada con segregaciones étnicas en poblaciones indígenas y nativos en varias zonas del mundo (San Martín Barberi, C. & Román, C.G., 1995). En Colombia previamente se documentó en afrocolombianos del litoral Caribe la ausencia de marcadores de infección en nativos de Palenque (Navas, M. *et al.*, 1995). Resulta importante resaltar que nosotros no encontramos presencia de anticuerpos en un estudio piloto realizado en afro-colombianos del Pacífico Norte (Egea, E. *et al.*, 1998), validando resultados previos publicados por San Martín y colaboradores (San Martín Barberi, C. & Román, C.G., 1995). En este trabajo hemos confirmado la ausencia de marcadores serológicos de infección en individuos de los dos grupos étnicos más representativos del litoral Caribe colombiano y hemos observado una selecta distribución de portadores para el virus HTLV-II sólo en los indígenas wayúus de la península guajira en la región colombiana. En ninguno de los 157 sueros provenientes de los indígenas wayúus examinados nos fue posible detectar portadores seropositivos para el HTLV-I, lo que confirma la exclusión mutua de las infecciones HTLV-I y HTLV-II, respectivamente. Se destaca que ninguna de las 840 muestras serológicas de los mestizos ni de los 580 sueros de los afrocolombianos resultaron positivos para las infecciones causadas por HTLV-I / II.

La ausencia de portadores de la infección por HTLV-I y II en los otros dos grupos (afrocolombianos y mestizos) nos permite sugerir la presencia de factores de especificidad genética en estas subpoblaciones que podrían explicar una posible resistencia a la infección. Todos los portadores HTLV-II del grupo de amerindios expresaron el alelo HLA DQB1* 0302, siendo el haplotipo HLA DRB1* 0411 - DQB1* 0302 el más frecuentemente encontrado en este grupo de wayúus infectados. Estudios previos han informado la presencia de este alelo HLA DQB1 0302 en otras poblaciones en general, tales como en los japoneses (Zaninovic, V. *et al.*, 1994).

Los hallazgos de las cargas génicas de nuestros afrocolombianos son similares a los encontrados por otros

investigadores en poblaciones de las costas occidentales del África, y podrían explicar la ausencia de los marcadores de infección para el virus en este grupo de afrocolombianos. De otra parte, nos permiten postular que los antiguos pobladores de estos palenques en el Caribe colombiano pudieron provenir de embarques de esclavos desde las costas oeste de África, donde al contrario del África central y suroriental, este virus tiene un comportamiento como un patógeno que produce una infección con alta endemicidad.

Tomando todos los resultados de este trabajo se podría postular que las olas de migración de origen mongólico trajeron consigo el virus HTLV-II del Viejo Mundo hacia el Nuevo Mundo y que los grupos afrocolombianos de la región norte del país podrían ser descendientes de africanos cuyo origen puede ser diferente al de los grupos negroides que pueblan las islas caribeñas, así como el litoral del suroccidente del Pacífico colombiano, donde la infección por HTLV y la co-infección HTLV-I / II tienen un comportamiento endémico. Los resultados que obtuvimos son consistentes con informes previamente expuestos (Fujiyama, C. *et al.*, 1993).

Estos hallazgos sugieren una restricción étnica y geográfica de la infección por este virus en el Caribe colombiano, e insinúan una susceptibilidad genética inherente, que podría explicar la ausencia y/o presencia de estos virus en los grupos estudiados.

La alta prevalencia (7%) de la infección causada por HTLV - II entre los individuos wayúu y la ausencia del virus en afrocolombianos del litoral Caribe, provee un modelo de investigación excelente, no sólo de la naturaleza de esta infección, sino también para analizar la segregación étnica específica de esta enfermedad viral. En estudios previos se ha demostrado una independencia geográfica de las infecciones causadas por HTLV-I / II, lo cual sugiere una especificidad étnica a la susceptibilidad para desarrollar las enfermedades causadas por el virus en mención. Por otro lado, los haplotipos HLA-DRB1* y DQB1* son mutuamente excluyentes entre las diferentes tribus amerindias de Colombia y otros grupos étnicos alrededor del mundo (Fujiyoshi, T. *et al.*, 1995). La exclusión de la infección causada por el virus HTLV - II en estos dos grupos étnicos particulares del Caribe (mestizos y afro-colombianos) puede ser justificada en razón a sus antecedentes antropológicos: los amerindios de la Costa Atlántica (wayúu) son descendientes de inmigrantes mongoloides del Viejo Mundo; los mestizos (población mezclada) y los afrocolombianos (población negra de origen africano) son desde el punto de vista genético totalmente diferentes, ya que poseen sus propios antecedentes antropológicos y genéticos.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren la presencia de una susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad determinada por la predominancia de alelos y haplotipos de los antígenos HLA presentes en la población wayúu, los cuales podrían ser capaces de modular y restringir la presentación antigénica, así como de activar clones de LTCD4(+). De esta forma, estas moléculas, unidas a péptidos virales del HTLV-II, actuarían así como factores patogénicos que serían la base molecular de una infección genética y étnicamente restringida.

Agradecimientos

El autor expresa sus agradecimientos al grupo de investigadores del Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular de la Universidad del Norte, en particular el valioso trabajo de la doctora Gloria Garavito, así como a los investigadores del Instituto de Investigaciones Inmunológicas de la Universidad de Cartagena, al Laboratorio Sasakawa de la Universidad del Valle, por su valioso apoyo y trabajo experimental requerido para esta investigación. A Colciencias, a la Fundación Mario Santodomingo, a Murex International Inc., y a la Universidad del Norte, por la financiación parcial requerida para esta investigación, y a Eduardo Egea Jr. por la revisión y participación en la elaboración de este manuscrito.

Referencias

- Arango R. Sánchez. 1988. Los pueblos indígenas de Colombia (Guía etnográfica de Colombia para actividades de Planeación). Prog NUD y DNP. Bogotá.
- Biggar RJ, Maloney E, Neel JV, & Blattner WA. 1992. HTLV-II is a new world virus. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 8: 931.
- Braciale, TJ, Braciale, VL. 1991. Antigen presentation: Structural Themes and functional variations. *Immunol Today*, 12: 124-129.
- Bryan, A. *South America. Early Man in the New World*. S. Richard (Ed). Sage Publications.
- Cavalli-Sforza, LL. 1991. Genes, peoples and languages. *Sci Amer*, 265: 104-110.
- Cerna, M., Falco, M, Friedman, H., Raimondi, E., Maccagno, A., Fernández Vina, M. & Stastny, P. 1993. Differences in HLA Class II alleles of isolated South American Indian population from Brazil and Argentina. *Hum Immunology*, 37: 213.
- Cleghorn, F., Charles, W., Blattner, WA. & Bartholomew, C. 1990. Adult T-cell leucemia in Trinidad and Tobago. I: W.A. Blattner (ed.), *Human retrovirology*, pp. 185-190. New York, Raven.
- Crawford, M.H. 1998. The origins of Native Americans: evidence from anthropological genetics. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Davies, JL, Kawachi, Y, Bennett, ST, Copeman, JB, Cordell, HJ, Pritchard, LE, Reet PW, Gough, SCL, Jenkins, SC, Palmer, SM, Balfour, KM, Rowe, BR, Farrall, M, Barnett, AH, Bain, SC & Todd, JA. 1994. A genome-wide search for human type I diabetes susceptibility genes. *Nature*. 371: 130.
- Dubey, DP. 1993. Quantitative Aspects of HLA. In: *Manual of Clinical Laboratory Immunology* (pp.867-876), 4th ed.en. N. Rose, Macarijo de EC, JL. Fahey, H. Friedman & G.M.Penn (Eds.) A, Soc. Microb Whashington D.C.
- Dueñas-Barajas, E., Bernal, J., Baught, D. et al. 1993. Human retroviruses in Amerindians of Colombia high prevalence of human T cell lymphotropic virus type II infection among the Tunebo Indians. *Am J Trop Med Hyg*, 49: 657-663.
- Egea, E., Blank, A., Garavito, G., Angel, L., Iglesia, A. & Caraballo, L. 1999. Restricción étnica y geográfica de la infección causada por el virus HTLV-II y su asociación con el polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad en tres subpoblaciones del Caribe colombiano. *ACMI*, 24: 137-143.
- _____, _____, Caraballo, L., Jimenez, S., Callejas, D. & Iglesias, A. 1998. Ausencia de Infección por los virus HTLV I/II en varias subpoblaciones de afrocolombianos en el Caribe colombiano. *ACMI sup*. XV Congreso de Medicina Interna. Santafé de Bogotá.
- Fernández-Viñas, M., Gao, X., Moraes, ME., et al. 1991. Alleles of four HLA class II loci determined by oligonucleotide hybridization and their associations in five ethnic groups. *Immunogenetic*, 34: 299-312.
- Fujiyama, C., Fujiyoshi, T., Miura, T., Yashiki, S., Matsumoto, D., Zaninovic, V., Blanco, O., Harrington, W., Jr, Byrnes, JJ., Hayami, M., Tajima, K., & Sonoda S. 1993. A new endemic focus of HTLV-II carriers among Orinoco natives in Colombia. *J. infect. Dis.*, 168: 1075-1077.
- Fujiyoshi, T. et al. 1995. Ethnic segregation of HTLV-I and HTLV-II carriers among South America Native Indians. *Int J Cancer*, 63: 510-515.
- Gessain, A., Tuppin, P., Kazanj, M., Cosnefroy, JY., Georges, C., Georges, AJ. & De the G. 1994. A distinct molecular variant of HTLV-IIIb in Gabon. Central Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 10: 753-754.
- Gjertson, DW. & Terasaki, P. 1998. *HLA 1998*. Lenexa, Kansas: American Society for Histocompatibility and Immunogenetic.
- Gorodezky, C. 1995. *Genetic Different between Europeans and Indians: Tissues and Blood types. Columbus and the New World: Medical Implications*. Providence (EE.UU): Oceans Publications.
- _____, Castro-Escobar, L. & Escobar-Gutiérrez, A. 1985. The HLA system in the prevalent Mexican Indian group the Nahuas. *Tissue Antigens*, 25: 38.
- _____, & Olivo, A. 1994. *Effective DNA technology transfer to developing countries*. Nueva York: Plenum Press.
- Gorski, J. 1989. The HLA DRw8 lineage was generated by a deletion in the DRB region followed by first domain diversification. *J. Immunol*. 142: 4041-4045.
- Goubau, P., Liutt, De Lange, GG., Vandamme, A. & Desmyter, J. 1993. HTLV-II Seroprevalence in Pymies across africa since 1970. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 9: 709-713.

- Greenberg, JH., Turner, CG. & Zegura, SL. 1986. The settlement of the Americans: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Current Anthropol*, 27: 477-497.
- Gregersen, PK., Kau, H., Nuñez-Roldán, A. *et al.* 1988. Recombination sites in the HLA class II region are haplotype dependent. *J. Immunol*, 141: 1365-1386.
- Gutiérrez, I. 1986. *Historia del Negro en Colombia*. Bogotá: Nueva América.
- Hjelle, BS., Zhu, W., Takahashi, H., Ijichi, S. & Hall, WW. 1993. Endemic Human T cell leukemia virus type II infection in southwestern us indians involves two proto-type variants of virus. *J Infect Dis*, 168: 737-740.
- Horai, S., Kondo, R., Nakagawa-Hattori, Y., Hayashi, S., Sonoda, S., & Tajima, K. 1993. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.*, 10: 23-47.
- Hurley, CK., Gregersen, PK., Gorsky, J. *et al.* 1989. The DR4(w18) DQW4 haplotype differs from DR3(w17), DQw2 haplotypes at multiple class I loci. *Hum Immuno*, 25: 37-50.
- Igarashi, T., Yamashita, M., Miura, T., Osei-Kwasi, M., Aysi, NK., Shiraki, H. *et al.* 1993. Isolation and genomic Analysis of Human T Lymphotropic Virus Type II from Ghana. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 9: 1039-1042.
- Imanishi, T., Wakisaka, A. & Gojobori, T. 1991. Genetic relationship among various human populations indicated by MHC polymorphisms In K. Tsuji, M. Arzawa. & Nasazuki. Vol. I. HLA. Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference. Yokohama. Oxford University Press.
- Jeffery, KJ. 2000. The influence of HLA class I alleles and heterozygosity on the outcome of human T cell lymphotropic virus types I infection. *J Immunol*, 165(2),7278-7284.
- Kaplan, JE. & Khabbaz, RF. 1993. The Epidemiology of Human T Lymphotropic Virus types I and II. *Rev. Med. Virol*, 3: 137-148.
- Katahira, Y., Yahiki, S., Fujiyoshi, T., Nomura, K., Tara, M., Mori, M., Setoyama, M., Kanzaki, T., Shida, H., & Sonoda, S. 1995. In vitro induction of cytotoxic T lymphocytes against HTLV-I infected T-cells from adult T-cell leukemia patients, asymptomatic HTLV-I carriers and seronegative healthy donors. *J Cancer Res*. 86: 21-27.
- Kelin, H. 1986. *African Slavery in Latin America and the Caribbean*. New York. Oxford University Press.
- Khare, SD., Luthra, HS. & David, ChS. 1998. Unraveling the mystery of HLA-B27 association with human spondyloarthropathies using transgenic and Knock out mice. *Seminars in Immunology*. 10: 15-23.
- Klein, J. 1986. *Natural History of the Major Histocompatibility Complex*. New York: John Wiley.
- _____, Satta, Y., O'Huigin, C. & Takahata, N. 1993. The molecular descent of the major histocompatibility complex. *Annu Rev Immunol*, 11: 269.
- Lal, RB., Hielle, B. & Rudolph, DL. 1992. Spontaneous proliferation of HTLV-II infected peripheral blood lymphocytes: HLA-DR-driven, IL-5- dependent. *Microbiol Immunol*, 36(8): 865-872.
- Lara-Marquez, ML., Yunis, JJ., Layrisse, Z., Ortega, F., Carvallo-Gil, E., Montagnani, S., Makhatadze, N.J., Pocino, M., Granja, C. & Yunis, E. 1999. Immunogenetics of atopic asthma: association of DRB1*1101 DQA1*0501 DQB1*0301 haplotype with Dermatophagoides ssp -sensitive asthma in a sample of the venezuelan population. *Clinical and Experimental Allergy*, 29: 60-71.
- Lemaitre, E. 1983. *Breve historia de Cartagena*. Bogotá: Italgraf.
- Levine, PH., Jacobson, S., Elliott, R., Caballero, A., Colclough, G. *et al.* 1993. HTLV-II infection in Florida Indians. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 9 p.
- Maloney, EM., Biggar, RJ., Neel, JV., Taylor, ME., Hahn, BH., Shaw, GM. & Blattner, W. 1992. Endemic human T-cell lymphotropic virus type II infection among isolated Brazilian Amerindians. *J. Infect. Dis.*, 166: 100-107.
- Martínez, B., Blank, M., Egea, E., Garavito, G. *et al.* 2000. HLA class I alleles in Latin American population. *Human Immunol*, (supl), 26th Annual Meeting American Society for Histocompatibility Immunogenetics.
- McMichael. 1997. *HLA in Infections disease. 1st edc. HLA and disease - The Molecular Basis*: Copenhagen. Munkgaard.
- Merriwether, DM., Rothhammer, F. & Ferrell R. 1995. Distribution of the four-found-ing lineage haplotypes in Native Americans suggest a single wave of migration for the new world. *Am J Phys Anthropol*, 98: 411.
- Middleton, D., William, F., Hamill, MA. & Meenagh, A. (2000). Frequency of HLA-B alleles in a caucasoid population determined by a two-stage PCR-SSOP typing strategy. *Human Immunol*, 61(2): 1287.
- Middleton *et al.* 1995. Modification of an HLA-B PCR SSOP typing system leading to improved allele determination. *Tissue Antigens*, 45: 232-236.
- Navas, M., Iglesias, A., Martínez, B. & Caraballo, L. 1995. Prevalencia de anticuerpos contra HTLV-I en una población negra del Caribe. *Biomedica*, 15: 34-36.
- Neel, JV. *et al.* 1994. Virology and genetic studies relate Amerind origins to the indigenous people of the Mongolia/Manchuria/Southeastern Siberia region. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 10737-10741.
- Olier, JR. 1990. Reflexiones sobre el posible origen wayúu (guajiro). En G. Ardila C. (Ed.) *La Guajira*. FEN- Universidad Nacional de Colombia.
- Pertz-Erler, ML., Gorodezky, C., Egea, E., Garavito, G. & Angel, L. 1996. Anthropology report for Region Latin-America: Amerindian admixed population, 1 p.
- _____, _____, Layrisse, Z., Klitz, W., Fainboim, L., Vullo, C., Bodmer, JG., Egea, E., Navarrete, C., Infante, E., Alaez, C., Olivo, A., Debaz, H., Bautista, N., Rosa, G. de la, Vazquez, MN., Navarro, JL., Pujol, M.J., Duran, C., Schafhauser, C., Garavito, G., Angel, L. *et al.* 1997. Anthropology report for Region Latin-America: Amerindian and admixed populations. En D. Charron (Ed.), *Genetic diversity of HLA: functional and medical implication*. Paris: EDK, pp. 337-345.
- Reeves, WC., Cutler, JR., Garcia, F., Kaplan, J., Castillo, L., Hartley, TM., Brenes, MM., Larreategui, M., de Lao, SL., Archbold, C., Lairmore, MD. & Levine, PH. 1990. Human

- T-cell lymphotropic virus infection of Guaymi Indians from Panama. *Amer. J. trop. Med. Hvg.*, 43: 410-418.
- Risch, N.** 1990. Linkage strategies for genetically complex traits. II. The power of affected relative pairs. *Am J Hum Genet*, 46: 229-241.
- Robinson, MA. & Kindt, T.J.** 1989. Major Histocompatibility complex genes. In P.E Williams (Ed). *Fundamental Immunology*. New York: Raven Press.
- Rose, NR.** 1998. The role of infection in the pathogenesis of autoimmune disease. *Seminars in Immunology*, 10: 5-13.
- Salzano, F. & Callegari-Jackques, S.** 1988. *South American Indians. A case study in evolution*. Oxford: Clarendon Press.
- Sanders, WT. & Marino, J.** 1969. *Prehistoria del Nuevo Mundo*. Barcelona, Editorial: Labor.
- Sanmartin Barberi, C. & Román, GC.** 1995. HTLV-I en la Costa del Pacífico de Colombia y Ecuador. *Tribuna Médica*, 92: 15-22.
- Schobinger, J.** 1969. *Preshistoria de Suramérica*. Barcelona, Ed: Labor.
- Silvera-Redondo, C., Gómez-Casado, E., Martínez-Laso, JM., Egea, E., Garavito, G., Varela, P., Pacho, A., Moscoso, J., Rubio, I. & Arnaiz-Villena, A.** 2000. A new HLA-Cw allele (Cw*0808) found in a colombian mestizo individual possibly generated by an intralocus/interloci gene conversion. *Immunogenetics*.
- Stranick, KS., Kienzle, BK. & Knowles, RW.** 1990. Molecular Analysis of a recombination breackpoint in the HLA DQ region. (Abs). *Hum Immunol* (suppl), 29: 6.
- Tajima, K. & Hinuma, Y.** 1992. Epidemiology of HTLV-I/II in Japan and the World. In: K. Takatsuki Y, Hinuma and M. Yoshida (eds:). *Advances in adult T-cell leukemia and HTLV-I research. Gann Monograph on Cancer Research N°39*, pp.129-150. Japan Scientific Societies Press.
- Thorsby, E.** 1995. Associated disease susceptibility. Wich genes are primarily involved? *Immunologies*, 3: 51.
- Vergara, GO.** 1990. *Los Wayúu, hombres del Desierto. La Guajira*. G. Ardila C. (Ed). FEN. Universidad Nacional de Colombia.
- Williams, RC, Steinberg, AG, Gershowitz, H., Bennett, PH., Knowler, WC., Pettitt, DJ., Butler, W., Baird, R., Dowda-Rea, L., Burch, TA., Morse, HG. & Smith, CG.** 1985. GM allotypes in native Americans: evidence for three distinct migrations across the Bering land bridge. *Am. J. Phys. Anthropol*, 66: 1-29.
- Wong-Staal, F., & Gallo, RC.** 1985. Human T-lymphotropic viruses. *Nature* (Lond), 317: 395-403.
- Zaninovic V. et al.** 1994. Geographic independence of HTLV-I and HTLV II foci in the Andes highland, the Atlantic Coast, and the Orinoco of Colombia. *AIDS Res. hum. Retroviruses*, 10: 97-101.