



Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Sociales
Departamento de Antropología

RETRATO DE UN HUÉSPED INVISIBLE

Perspectivas para la Aplicación de la Paleogenética de Parásitos Metazoos
en el Estudio de la Historia Natural del Ser Humano

**Memoria para optar al Título en Antropología con Mención
Antropología Física**

Rubén Santander H.

Profesor Guía: Dr. Mauricio Moraga

Santiago de Chile

2008

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta memoria de título no hubiera sido posible sin el inestimable apoyo del Dr. Mauricio Moraga. Agradecemos además el financiamiento de FONDECYT a través del proyecto número 11060442.

TABLA DE CONTENIDO

1. PROLEGÓMENOS	6
1.1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	10
1.2.1. Utilidad del estudio de los helmintos que parasitan al ser humano	12
1.3. EL CONCEPTO DE HUÉSPED	16
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	18
2.1. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS	19
2.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO	20
3. MARCO TEÓRICO.....	20
3.1. ANTECEDENTES.....	20
3.1.1. Conceptos clave en parasitismo	21
3.1.2. Paleogenética y Filogenética	27
3.1.3. Paleoparasitología	31
3.2. DELINEAMIENTO TEÓRICO DE LA PROPUESTA.....	37
3.3. HELMINTOS E HISTORIA NATURAL HUMANA	48
3.3.1. Generalidades sobre los helmintos intestinales	50
3.3.2. Helmintos como marcadores biológicos	54
4. MATERIAL Y MÉTODO	63
4.1. ASPECTOS GENERALES DEL MATERIAL, EL MÉTODO Y LA ORIENTACIÓN DE LA MEMORIA	63
4.2. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO	65
4.3. HERRAMIENTAS DE ANÁLISIS	67
5. ESTADO DEL ARTE DEL REGISTRO PALEOPARASITOLÓGICO EN CHILE.....	69
5.1. INTRODUCCIÓN	69
5.2. CRITERIOS EMPLEADOS EN ESTA REVISIÓN.....	71
5.3. VALIDEZ Y VALOR DE LOS DIAGNÓSTICOS PALEOPARASITOLÓGICOS	73
5.4. REGISTRO PALEOPARASITOLÓGICO EN CHILE	77
5.4.1. <i>Ancylostoma duodenale</i> y <i>Necator americanus</i>	80
5.4.2. <i>Ascaris lumbricoides</i>	82
5.4.3. <i>Trichuris trichiura</i>	83
5.4.4. <i>Enterobius vermicularis</i>	87
5.4.5. <i>Trichostrongylus</i>	89
5.4.6. <i>Paragonimus</i>	90
5.4.7. <i>Diphyllobothrium</i>	91
5.4.8. <i>Hymenolepis nana</i>	92
5.4.9. <i>Capillaria</i>	93
5.5. DISCUSIÓN Y SUMARIO	95
6. DESCRIPCIÓN GENERAL Y CICLOS BIOLÓGICOS DE LAS ESPECIES DE HELMINTOS PARÁSITOS PRESENTES EN EL REGISTRO ARQUEOLÓGICO CHILENO.....	101
6.1. <i>Ancylostoma duodenale</i> y <i>Necator americanus</i>	102

6.1.1. Generalidades	102
6.1.2. Ciclo Biológico	105
6.2. <i>Trichuris trichiura</i>	107
6.2.2. Generalidades	107
6.2.2. Ciclo Biológico	109
6.3. <i>Enterobius vermicularis</i>	111
6.3.1. Generalidades	111
6.3.2. Ciclo Biológico	113
6.4. <i>Trichostrongylus</i> spp.	115
6.4.1. Generalidades	115
6.4.2. Ciclo Biológico	116
6.5. <i>Paragonimus</i> spp.	117
6.5.1. Generalidades	117
6.5.2. Ciclo Biológico	118
6.6. <i>Diphyllobothrium</i> spp.	120
6.6.1. Generalidades	120
6.6.2. Ciclo Biológico	122
6.7. <i>Hymenolepis nana</i>	123
6.7.1. Generalidades	123
6.7.2. Ciclo Biológico	124
7. POBLAMIENTO DE AMÉRICA Y EL ORIGEN DE LOS HELMINTOS DEL REGISTRO ARQUEOLÓGICO CHILENO	126
7.1. INTRODUCCIÓN	126
7.2. BREVE SUMARIO DE LA DISCUSIÓN EN TORNO AL POBLAMIENTO TEMPRANO DE AMÉRICA	127
7.3. POSIBLE ORIGEN DE LOS HELMINTOS DESCRITOS	136
7.3.1. <i>Ancylostoma duodenale</i> y <i>Necator americanus</i> . Presuntas vías de introducción en América.	136
7.3.2. <i>Trichuris trichiura</i> . Presuntas vías de introducción en América.	141
7.3.3. <i>Enterobius vermicularis</i> . Presuntas vías de introducción en América.	145
7.3.4. <i>Trichostrongylus</i> sp. Presuntas vías de introducción en América.	149
7.3.5. <i>Paragonimus</i> sp. Presuntas vías de introducción en América.	150
7.3.6. <i>Diphyllobothrium</i> spp. Presuntas vías de introducción en América.	151
7.3.7. <i>Hymenolepis nana</i> . Presuntas vías de introducción en América.	152
8. SELECCIÓN DEL PARÁSITO IDÓNEO PARA UNA PRIMERA APROXIMACIÓN AL PROBLEMA	157
8.1. INTRODUCCIÓN	157
8.2. ASPECTOS A CONSIDERAR	158
8.3. COMPARACIÓN ENTRE LOS HELMINTOS DESCRITOS Y DETERMINACIÓN DEL HELMINTO MÁS APROPIADO PARA LA APROXIMACIÓN.	164
8.4. SUMARIO	169
9. HACIA UNA APROXIMACIÓN AL DNA ANTIGUO DE LAS UNCINARIAS HUMANAS	173
9.1. PRESENTACIÓN	173
9.2. HERRAMIENTAS PARA EL ANÁLISIS DE DNA ANTIGUO	173
9.2.1. Reacción en Cadena de Polimerasa	174
9.2.2. Partidores o <i>Primers</i>	178
9.3. HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS	180
9.4. RESULTADOS	182

9.4.1. Selección del genoma objetivo del análisis	183
9.4.2. Criterios de selección de las secuencias blanco.....	188
9.4.3. Desarrollo de los partidores.....	196
10. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES: HACIA UNA PALEOPARASITOLOGÍA GENÉTICA HUMANA.....	206
10.1. DISCUSIÓN: RETOS RELATIVOS A LAS HERRAMIENTAS DE ANÁLISIS MOLECULAR	206
10.1.1. Respecto a los partidores.....	206
10.1.2. Respecto a las herramientas y técnicas biotecnológicas, en particular el PCR.....	207
10.2. CONCLUSIONES: HACIA UNA PALEOPARASITOLOGÍA GENÉTICA HUMANA DESDE LA ANTROPOLOGÍA FÍSICA.....	211
10.2.1. Perspectivas que se extrapolan de las propuestas delineadas y problemas prácticos	213
10.2.2. Avalando la aplicación de la (paleo) parasitología en las disciplinas que estudian la variabilidad humana desde las nuevas herramientas de la ciencia molecular y genética. Reflexiones finales.	216
11. BIBLIOGRAFÍA.....	222

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo que muestra las características de un endoparásito para su uso como marcador biológico.....	44
Tabla 1. Características de los ciclos biológicos de los helmintos analizados que inciden en su utilidad como marcadores biológicos	162
Figura 2. Esquema de PCR.	176
Figura 3. Alineamiento del gen L-rRNA de nemátodos.....	198
Figura 4. Alineamiento de secuencias del gen cox1 de nemátodos.....	2032
Figura 5. Alineamiento del gen nad2 de N. americanus y A. duodenale.....	204

RESUMEN

La relación huésped-parásito, cuya interdependencia biológica deja de manifiesto muchas veces una larga historia coevolutiva, ha permitido aproximarse de forma indirecta al huésped y a su historia a partir del conocimiento de diferentes aspectos biológicos del parásito. La paleoparasitología, con el auxilio de la paleogenética, puede convertirse en una interesante herramienta para la antropología física. La historia natural de los parásitos corre de forma paralela a la de sus huéspedes, en el sentido de que los eventos evolutivos que afectan al huésped también tienen un efecto sobre el genoma del parásito. Así, en determinados casos, sería posible extrapolar eventos de la historia natural de los seres humanos a partir del análisis del genoma de sus parásitos. Aproximaciones de esta naturaleza ya han sido ejecutadas con éxito sobre algunos parásitos microscópicos. El análisis llevado a cabo en este estudio nos conduce a concluir que es posible esperar similitudes entre las topologías de los árboles genéticos de los seres humanos y algunos parásitos metazoos, en este caso helmintos endoparásitos. El uso de este tipo de marcadores biológicos presentaría múltiples ventajas.

Nuestra propuesta se complementa con un extenso análisis bibliográfico de la literatura arqueoparasitológica del territorio chileno y las regiones inmediatamente aledañas en épocas precolombinas. Sobre esta revisión fueron seleccionadas las especies de helmintos más apropiadas para su uso como marcadores biológicos del ser humano (*Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*), y sobre ellos se desarrolló una indagación bioinformática con objeto de generar *primers* para la amplificación mediante PCR de regiones informativas en diferentes niveles.

1. PROLEGÓMENOS

1.1. INTRODUCCIÓN

Como sabemos, el campo de estudio de la antropología general es la variabilidad humana, y el de la antropología física en particular es el de la variabilidad biológica humana. A pesar de la acotación hecha para la disciplina, la variabilidad biológica del ser humano es un campo amplio por dónde se le mire, tanto en la profundidad (temporal y epistemológica) como en la extensión de las preguntas que emergen de él.

Es un lugar común indicar la calidad de ciencia eminentemente multidisciplinaria de la antropología física. Esta condición, que en absoluto es exclusiva de esta disciplina, ya que en la actualidad es común, deseable y hasta indispensable el acercamiento entre las más diversas fuentes en todos los campos de estudio, siempre y cuando se cuide la legitimidad de dichas convergencias, ha caracterizado a la antropología física desde sus inicios, al constituirse como disciplina con un cuerpo teórico, práctico y un campo de estudio propios de forma independiente a partir del encuentro y de la evolución conjunta con ciencias y técnicas de más larga historia en diferentes lugares. Así, la antropología física se ha desarrollado hasta su forma actual en primer lugar desde la etnología, y desde ésta en su convergencia con la medicina, la fisiología y la biología evolutiva, en pos de determinar la variabilidad biológica de las poblaciones que el etnógrafo caracterizaba social y culturalmente. En la etnología o antropología social / cultural encontramos la principal fuente u origen de la antropología física, aunque la mayoría de sus técnicas y metodologías provengan originalmente de las ciencias naturales. Claude Levi-Strauss considera que la antropología física se nutre o, más bien, está conformada por tres vertientes del conocimiento: por una parte, es ciencia social, por otra humanidad, y en tercer lugar, ciencia natural. Pero, según él, es una ciencia natural obligada a atender permanentemente a los aspectos sociales y humanos, debido a

su particular objeto de estudio (Levi-Strauss, 1995. pg. 365 – 366). Esta triple raíz de la disciplina no debe ser vista por cierto como justificación de debilidades metodológicas o epistemológicas de las investigaciones en antropología física; en cambio, debería ser un aliciente para la inclusión de mayores criterios de rigurosidad a la hora de juzgar las elucubraciones que se desprenden del amplio espectro de investigación que posee.

La antropología física se va conformando en su historia mediante un proceso en el que este núcleo central, que emerge de la etnología, va convergiendo con disciplinas tales como la zoología y la sistemática; con (y a partir) de la paleontología; con la embriología y la ontogenia, desde la osteología y la morfología; en su convergencia con la genética, la demografía y la biogeografía. En fin, el factor común de todos estos desarrollos que hoy confluyen en una única y amplia disciplina es el concepto de variabilidad biológica. Este es el « objeto de estudio » de la antropología física, que es más bien una noción rectora de múltiples campos de investigación en torno al fenómeno humano, y sus campos de indagación responden a esta búsqueda tanto desde una perspectiva sincrónica (variabilidad espacial, concepto de raza, demografía, ecología humana, etc.), como diacrónica (variabilidad histórica, macroevolución y microevolución, filogenia, etc.). Así, a medida que esta disciplina se ha ido desarrollando, siguiendo las orientaciones que investigadores y escuelas particulares le han impreso en relación con sus diversos orígenes en tanto que especialistas en áreas particulares que convergen hacia el estudio del hombre, de su variabilidad, la antropología física ha ido haciendo uso de las disciplinas auxiliares de cada una de las ciencias desde las que se ha “desprendido” o con las que ha convergido, en pos de realizar un mayor y más sistemático acopio de datos para sus indagaciones.

De esta manera, la antropología física es una disciplina inseparable de sus diferentes orígenes y metodologías, en conjunto tomadas de diversas fuentes históricas de conocimiento, de una serie de especialidades desde las que se ha contribuido a la comprensión del ser humano en el más amplio de los sentidos. Pero es a la vez una disciplina única en sus objetivos, original en sus indagaciones y exclusiva en sus

contenidos, que ha sabido tomar los desarrollos metodológicos de otras áreas, asociados a la resolución de preguntas ajenas a la disciplina, para responder preguntas propias. Esta ha sido la forma en que la disciplina multidisciplinaria, intermedia si se quiere, conocida como antropología física, ha crecido y ha ido tomando forma, y actualmente es difícil discutir el peso específico de sus preguntas y la científicidad de sus respuestas.

En este marco, el de una disciplina que es por definición no dogmática o no ortodoxa, una ciencia dónde en algunas áreas aun resulta difícil separar el método científico de los aspectos políticos y las meras elucubraciones (justamente porque uno de sus objetivos en tanto que filosofía positiva es explicar y deshacerse de esos lastres), es donde se sitúa el presente trabajo.

El antropólogo físico hace tiempo que dejó de acompañar al etnólogo (o de identificarse con él) en sus investigaciones de las sociedades aisladas en los más “recónditos” lugares de la tierra (en gran parte, debido a la desaparición fáctica de dicho objeto de estudio). En este proceso, gran parte de la indagación bioantropológica (en lo sucesivo, utilizaremos alternativamente las denominaciones de bioantropología, antropología física y antropología biológica, sin atender por el momento a sus diferencias históricas o políticas), aunque no toda, se trasladó hacia el pasado, hacia la búsqueda, el reconocimiento y la reconstrucción de la variabilidad biológica humana y de su historia. Bajo esta perspectiva, las evidencias a las que el antropólogo físico tiene acceso en general corresponden a fragmentarios materiales orgánicos de origen humano y algunas evidencias biológicas indirectas, también fragmentarias y escasas. Estas condiciones que caracterizan a la evidencia en torno a la cual se practica la antropología física han servido de estímulo a la permanente búsqueda de nuevos materiales para la investigación indirecta dentro de la disciplina. Esta búsqueda forzosa o forzada ha dado importantes frutos, provenientes sobre todo de áreas como la histología y la biología molecular y genética.

La propuesta que se desarrolla en el presente estudio pretende constituirse como un aporte a la antropología física, a partir de la realización de una síntesis o convergencia (no entendemos aquí ambos conceptos como sinónimos, pero no nos detendremos por el momento en cuestiones filosóficas) entre disciplinas que permanecen en general separadas por lo dispar, en apariencia (y en la práctica), de sus respectivos objetos de estudio y objetivos. Las disciplinas sobre las que esta relativamente nueva perspectiva bioantropológica se aboca en pos de emplear las potencialidades de la convergencia en la búsqueda de evidencias de la historia microevolutiva humana son, en primer lugar, la paleogenética, cuerpo de metodologías nacidas de la genética de poblaciones cuyos logros han marcado una verdadera revolución en el campo de la antropología física, y la paleoparasitología, disciplina que ha ido estableciéndose en los últimos años y cuya aproximación a la antropología física se mantiene aun en un estado insipiente, con avances interesantes pero de poca notoriedad aun, asociados en general a aportar evidencias auxiliares a la arqueología. También haremos empleo y propondremos el uso, al menos en un nivel teórico, de algunas técnicas que el antropólogo físico no emplea con regularidad en sus indagaciones, en particular provenientes de la biología molecular, la biotecnología y la bioinformática, cuerpo de técnicas y tecnologías que han visto un explosivo desarrollo en los últimos años y cuyo potencial marca un punto de inflexión en la historia de la ciencia, en lo que podría llamarse (y se ha llamado; ver Avise, 2004) la « revolución molecular ». Creemos que una aproximación desde estas áreas hacia objetivos más ambiciosos dentro de la elucubración bioantropológica puede dar interesantes frutos; en el presente trabajo analizaremos mediante qué vías dicha síntesis puede transformarse en un aporte, qué teorías y qué evidencias sustentan ésta idea, y cuales son las áreas dentro de los cuales podrían ser implementadas estas propuestas. En definitiva, trataremos de mostrar cuales son las preguntas no respondidas y cuales son las preguntas nuevas que una « paleogenética parasitológica » podría responder en lo respectivo a la bioantropología y en particular a la microevolución del ser humano americano, desde su arribo al continente hasta nuestros días, y de qué forma podrían ser obtenidas dichas respuestas.

1.2. JUSTIFICACIÓN

En la investigación de los procesos microevolutivos humanos, el advenimiento de los procedimientos que involucran marcadores moleculares, es decir de las técnicas paleogenéticas, ha implicado una verdadera revolución, ampliando de forma espectacular el campo de investigación y la cantidad de datos de carácter empírico con los cuales pueden trabajar los investigadores y desarrollar modelos que permitan describir de forma fehaciente los procesos del pasado. Sin embargo, existe un enorme número de fenómenos microevolutivos de enorme interés, tanto en términos biológicos como históricos, donde la paleogenética, debido a la resolución de los marcadores moleculares habitualmente empleados, inclusive los de mayor capacidad informativa en escalas de tiempo relativamente corta, no puede adentrarse ni aportar datos con los niveles de verosimilitud necesarios para la construcción de historias y modelos microevolutivos fehacientes.

El proceso de poblamiento americano se inscribe dentro de aquellos fenómenos producidos dentro de parámetros temporales relativamente recientes para la resolución a la que los marcadores que permiten estudiar la evolución pueden ser informativos, de manera que se encuentra dentro de los fenómenos conflictivos en estos términos. Qué decir de los procesos demográficos acaecidos desde entonces dentro del continente y que han desembocado en la variabilidad y distribución actual de las poblaciones. Cada uno de estos fenómenos históricos se ubica en un limbo de información, rodeado de una bruma constituida literalmente por lo borroso que se vuelven ciertos procesos históricos que generan variabilidad genética a escalas de tiempo reducidas, donde las variaciones « con causa » son difíciles de detectar y separar de la variabilidad normal dentro de las poblaciones en tanto a que los marcadores empleados muestran una variabilidad diacrónica en general menor a la necesaria.

En la presente memoria de título se establecerán las líneas generales de una propuesta teórica y metodológica cuyo norte es aportar nuevos datos o, más bien, datos que hasta ahora permanecen en desuso u ocultos a la investigación bioantropológica, para resolver problemas e indagar en aspectos relativos al poblamiento temprano de América y a la historia microevolutiva de estas poblaciones, propuesta que puede ser sin embargo extrapolable a cualquier población humana.

Si bien lo que se busca con esta tesis es promover y justificar una línea de investigación particular y bien definida, también espera tener como resultado emergente un llamado a abrir los ojos ante la convergencia de disciplinas. No abogamos aquí por un holismo acérrimo ni por un macrorreduccionismo irreflexivo, pero las convergencias legítimas siempre han rendido buenos resultados en la ciencia. Este es un llamado dirigido en particular a la Antropología Física y a la Arqueología chilena, disciplinas y escuelas cuyas herramientas, por razones históricas, sociales y económicas, se han quedado a veces estancadas. El arqueólogo debe conocer todas las herramientas y fuentes con las que cuenta actualmente, y en la medida de lo posible, debería contar en sus inspecciones y excavaciones a terreno con especialistas para cada área, o al menos para las áreas en que es esperable recuperar cierta clase de material. El antropólogo físico no se puede contentar con practicar una osteología y osteopatología macroscópica y por más que escaseen los recursos técnicos debe procurar recolectar la mayor variedad de evidencias orgánicas de los sitios que estudia.

1.2.1. Utilidad del estudio de los helmintos que parasitan al ser humano

La paleogenética de parásitos metazoos es un área de estudio de desarrollo incipiente. Esto se debe a que sus resultados son de escasa utilidad para la investigación de fenómenos humanos y los datos que aporta no pasan de ser, en muchos casos, una curiosidad, aunque en otros casos pueden aportar relevantes datos sobre las poblaciones humanas extintas. Cómo se producen este tipo de datos está fuera del alcance y de los

objetivos del presente estudio, pero es importante recalcar que las investigaciones en torno a la prevalencia de este conjunto de parásitos en un grupo humano extinto pueden aportarnos conocimientos relativos a aspectos socioculturales, permitiendo inducir las condiciones de vida ancestrales de aquellas comunidades. El conocimiento de los factores sociales y ecológicos que rodean y propician las infecciones parasitarias en la actualidad puede permitir realizar extrapolaciones confiables hacia el pasado.

En nuestra aproximación, los parásitos metazoos sobre los que nos abocaremos son los llamados helmintos. Hay una serie de factores de orden práctico que hacen a los helmintos un blanco ideal para la investigación bioantropológica, la principal de ellas es que se trata de infecciones hegemónicas, que no reconocen ni cultura, ni raza, ni época, encontrándose sus rastros con una alta frecuencia en el registro arqueológico. Esto se aplica sobre todo a los geohelmintos, aquellos gusanos que deben atravesar por una etapa de desarrollo en el suelo durante su ciclo biológico y que comúnmente abandonan el cuerpo de sus huéspedes humanos a través de las heces.

Los factores socioculturales que favorecen la prevalencia de geohelmintiasis son la precariedad de las viviendas, el hacinamiento, una deficiente disposición de las deposiciones humanas, la contaminación de los alimentos y del agua de consumo, las deficiencias nutricionales, la acumulación de residuos, la convivencia estrecha con los vectores que transmiten determinado parásito, la modificación en los drenajes naturales de las aguas pluviales, la acumulación de aguas residuales y la generación de “microclimas” en relación a los factores anteriores. Ante el reto de reconstruir los antiguos modos de vida y teniendo a mano las evidencias paleoparasitológicas, es conveniente tener en cuenta todas estas situaciones. En lo que dice referencia con los aspectos propios de la salud pública que se pueden extrapolar desde los hallazgos arqueológicos de estos parásitos cabe mencionar que los síntomas y signos habituales producidos por estas infecciones son en general inespecíficos, incluyendo dolores gástricos, diarrea, alteraciones del apetito y pérdida de peso, detención del crecimiento,

nerviosismo, ansiedad, bajo rendimiento intelectual y otras alteraciones del comportamiento.

Muchas helmintiasis que pueden afectar al ser humano pueden ser producto del fenómeno conocido como zoonosis. Una zoonosis es una enfermedad que presenta alguna especie animal y que puede transmitirse al ser humano en condiciones naturales. Las variaciones en las conductas sociales de los seres humanos tienen un efecto profundo en la epidemiología de las zoonosis parasitarias y su aparición o reaparición. Cambios sin precedentes en la demografía de las poblaciones afectan de forma importante el comportamiento y epidemiología de ciertos agentes patógenos (Macpherson, 2005). La urbanización, con su fuerte impacto en la conducta humana acarrea enormes consecuencias en términos infecciosos. La rápida evolución de los centros urbanos, debida principalmente a la migración, produce una disposición inadecuada de los desechos, resultando en la creación de numerosos sitios de crianza de vectores, en desmedro de la salud pública. El incremento de la población que se ha producido a lo largo de la historia en diferentes contextos trae consigo que las fuentes de agua para beber sean inadecuadas y poco seguras. La migración de humanos y sus animales domésticos ha sido a través de la historia el patrón para la diseminación de las zoonosis parasitarias y continúa teniendo un impacto en la emergencia, frecuencia y dispersión de las infecciones zoonóticas (Macpherson, 2005). En la actualidad el movimiento sin precedentes de personas, incluyendo inmigración, migración campo-ciudad, flujo de refugiados y turistas, introduciendo y mezclando sus preferencias culturales, costumbres y patrones de comportamiento, y los cambios concomitantes en el ambiente, el clima, la tecnología, el uso del suelo y la demografía humana, convergen en favorecer el surgimiento de enfermedades infecciosas causadas por un amplio espectro de organismos, incluidos los helmintos parásitos intestinales. Este mismo tipo de procesos en diferentes escalas es posible descubrirlos y analizarlos en poblaciones extintas a través del estudio de sus parásitos.

Estudios en Malasia reportan una incidencia de infecciones severas de *Trichuris trichiura*, un gusano geohelmintho que parasita en los intestinos humanos, mayor entre los niños indios que entre los malayos o chinos (Stephenson et al., 2000). Esto indica que factores étnicos, más específicamente las diferencias étnicas en el comportamiento, ayudan a determinar la intensidad de la infección, lo que es una muestra de lo relevante que son los aspectos socioculturales en la expresión de las parasitosis. Etnia, cultura y religión juegan importantes roles en el espectro de alimentos que consumimos y de qué manera son preparados, incidiendo subsecuentemente en el rango de parásitos al se verán expuestos los individuos de las comunidades con diferentes hábitos alimenticios. En este sentido, una de las formas más intrigantes de contraer infecciones como la trichuriasis es la geofagia. El consumo de tierra responde a una práctica cultural que puede ser extremadamente común, particularmente en mujeres en edad fértil y en niños de áreas endémicas. Las motivaciones para la geofagia no están claras. La observación de que es realizada por niños y mujeres en edad fértil puede estar implicando que factores importantes que inducen ésta práctica son el incremento de las necesidades de calcio y el alivio de la náusea en el embarazo y es posible que el consumo de tierra arcillosa sea adaptativo debido a sus propiedades antidiarreicas, detoxificantes y de suplementación mineral, pero nada de esto está suficientemente bien dilucidado. Lo que si está claro es que los niños que practican la geofagia están más propensos a contraer infecciones por *Ascaris* o *Trichuris* que aquellos que no la practican, y estas infecciones se desarrollarán con una intensidad mayor en los primeros que en los segundos (Stephenson et al., 2000).

Como vemos, existe una compleja interrelación de factores en torno a la infestación de los seres humanos por parte de estos organismos, de manera que la aproximación sobre algunos de estos aspectos podría permitir eventualmente inducir otros, lo que puede aportar nuevos antecedentes sobre sociedades actuales y pretéritas. La paleoparasitología busca extrapolar estas relaciones hacia las ecologías parasitarias de la antigüedad. Las herramientas paleogenéticas pueden servir de apoyo a estas investigaciones, permitiendo

entre otras cosas identificar fehacientemente determinados parásitos en muestras arqueológicas. Pero lo que es más importante para nosotros es establecer la posibilidad de que a partir de la filogenia de un parásito se puedan extrapolar aspectos de la filogenia de sus huéspedes y que esto permita la construcción de modelos filogeográficos de los helmintos que nos develen las relaciones entre diferentes poblaciones humanas a un nivel resolución mayor que el de otros marcadores. La complejidad de los ciclos biológicos de los geohelmintos y de sus relaciones con el ser humano, lo que se suma a su frecuencia en el registro, otorgan una serie de criterios para determinar parásitos idóneos para su empleo como marcadores biológicos humanos.

1.3. EL CONCEPTO DE HUÉSPED

Los conceptos de la parasitología que usaremos con frecuencia en este estudio serán definidos en el marco teórico con el fin de evitar ciertos equívocos y delimitar la forma en que los emplearemos. Sin embargo, el concepto de huésped merece especial atención. La palabra huésped proviene del latín *hospes* y su acepción más común, la que se emplea en el uso coloquial, señala a aquella persona que se aloja en una casa ajena o un establecimiento especialmente destinado a esos fines, como una posada. Sin embargo, en castellano, también refiere a la persona que hospeda en su casa a otra, es decir, al mesonero o amo de una posada o al dueño de una casa. El diccionario de la Real Academia Española de la Lengua admite además otra definición que emerge de una analogía llevada al fenómeno del parasitismo. La definición que entrega la RAE es la siguiente: « **Huésped, da.** com. *Biol.* Vegetal o animal en cuyo cuerpo se aloja un parásito »¹. Sin embargo, el que la analogía se cuelgue del significado que menos se emplea de esta palabra (en su lugar se usan términos como hospedero u hospedador, o bien anfitrión, que sería la traducción literal del vocablo inglés *host*) puede llevar a la confusión. Esta confusión se ha tratado de subsanar algunas veces mediante el empleo

de esos términos alternativos y quizá más unívocos para referirse al huésped, y de hecho han sido aceptados por la RAE como parte de la terminología biológica, pero siempre en referencia a la palabra *huésped* original. Este hecho, más bien histórico, sumado a la fuerza que presenta el concepto de huésped dentro del grueso de la literatura biológica, y en particular parasitológica (ya que la mayoría de las referencias de esta literatura provienen del mundo anglosajón), nos llevó a utilizar esta palabra, en lugar de las otras señaladas, como anfitrión u hospedador, que también se usan en la bibliografía en castellano.

Debido a la posibilidad de una confusión, vale la pena señalarlo, así como también puede resultar conveniente exponer este problema en función del título que dimos a este trabajo, cuya literalidad no queda del todo clara en atención al concepto coloquial de la palabra « huésped ». El sentido del título « Retrato de un Huésped Invisible » es señalar el objetivo que persigue el presente estudio: sentar las bases para hacer un retrato, una descripción lo más acabada posible, de un huésped (y cuando decimos *huésped*, estamos aludiendo necesariamente a un organismo en cuyo cuerpo se aloja un parásito, y de esta manera estamos poniendo el foco sobre esta relación biológica por sobre todos los demás factores que constituyen a ese organismo), en este caso un ser humano, cuyo rastro se presenta invisible, cuyas huellas, las evidencias de su presencia y de su historia natural aparentemente han desaparecido del registro; este fenómeno, la desaparición de las huellas biológicas, de las evidencias directas de *nuestros* ancestros bajo determinadas circunstancias, que bien podrían implicar una renuncia a conocer dicha parte de la historia natural del ser humano, resultan sin embargo ser un aliciente para la generación y maduración de ideas y metodologías indirectas para hacer aparecer a estos hombres y mujeres que de hecho estuvieron, vivieron y fueron aunque no podamos verlos. La consigna de este trabajo es proponer herramientas que permitirían realizar ese difícil retrato a partir de aquello que hacía y hace que los seres no sean unas criaturas que simplemente transitan sobre la tierra, algo que los arqueólogos y antropólogos tienen

¹http://buscon.rae.es/draeI/SrvltObtenerHtml?LEMA=hu%C3%A9sped&SUPIND=0&CAREXT=10000&NEDIC=No#0_3

presente en todo momento: nos referimos, claro está, a la cultura. Pero el legado de los humanos no es sólo su cultura. También formamos parte de un ecosistema, estamos en constante interacción con otros organismos, incluso hoy en día en que procuramos con cada vez más fuerza aislarnos en cajas de concreto y fibra de vidrio. Hay otros rastros del ser humano, hay organismos que han recorrido y colonizado la tierra junto con nosotros, codo a codo, y ellos, nuestros parásitos, constituyen un enorme potencial como fuentes indirectas para conocer *nuestro* pasado.

En un sentido epistemológico, de esta convergencia emerge no una nueva disciplina pero al menos sí nuevas perspectivas de teorización y una nueva conceptualización de la enfermedad parasitaria, sobre todo para la antropología física. En un sentido ontológico, la convergencia aun se halla dando sus primeros tumbos y sus observaciones hasta ahora han sido, aunque interesantes y estimulantes, limitadas y aun no decisivas. Pero dadas las posibilidades, a nuestro parecer enormes, que la aproximación (en curso) de estas áreas de estudio manifiesta, se hace imperioso un esfuerzo por sentar líneas sobre las que pensar y llevar la convergencia, es pos de analizar sus verdaderas posibilidades y promover un correlato ontológico y experimental.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

La presente investigación pretende dar cuenta del potencial que herramientas marginalmente utilizadas en antropología física tienen para la investigación de aspectos históricos del comportamiento demográfico humano que por otros medios serían imposibles o muy difíciles de estudiar.

La hipótesis que se propone es que es posible, por medio de métodos moleculares aplicados a parásitos metazoos, en particular a los helmintos intestinales de huésped humano, generar nuevos marcadores moleculares para investigar la historia microevolutiva y demográfica del ser humano. Es decir, se proponen que existen parásitos frecuentes en el registro arqueológico americano (en este caso) que pueden aportar datos sobre la historia humana diferentes que los que hasta ahora se han obtenido de su estudio, gracias al uso de herramientas bioinformáticas y técnicas moleculares.

Esta hipótesis se sustenta en varios supuestos que es necesario analizar con detención, el más importante de los cuales es el indicio de que si la evolución de los parásitos se produce en estrecha asociación a la evolución de sus huéspedes humanos (como ocurre en los fenómenos de coevolución), entonces sería posible desprender de la filogenia de los primeros datos respecto a la historia natural de los segundos. Así, será preciso analizar las relaciones entre los parásitos y huéspedes en nuestro análisis, en busca de que la información que aporte el estudio de la variabilidad molecular de los organismos parasitarios sea informativa en algún grado de la variabilidad de sus huéspedes humanos.

Si es posible desprender de una filogenia parasitaria datos respecto a la historia natural de sus huéspedes humanos, la antropología física tiene mucho que obtener de una aproximación paleoparasitológica.

2.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

En el presente estudio se busca mostrar de qué manera es posible realizar esta aproximación sobre parásitos helmintos y en qué evidencias se afirma la hipótesis sugerida. Para esto, la investigación se desglosa en los siguientes aspectos:

- a) Presentación de los antecedentes que permiten dar sustento a la hipótesis planteada.
- b) Proposición y justificación de los criterios que permiten la selección de un linaje parasitario para su empleo como marcador biológico de la historia del ser humano.
- c) Puesta en práctica dichos criterios para realizar la selección de uno o varios parásitos sobre los que sería factible realizar la aproximación. En este punto se hace imperativo una completa revisión bibliográfica que de cuenta del conocimiento que se tiene de el o los parásitos que serán usados, tanto en términos parasitológicos como paleoparasitológicos y arqueológicos. En el presente trabajo pondremos nuestro foco en Chile en tiempos precolombinos; así, la elección de los parásitos a emplear deberá tener en cuenta, en primer lugar, su distribución geográfica, y en segundo lugar, su presencia en sitios arqueológicos datados en fechas anteriores a 1492 d.C.
- d) Selección, dentro de los parásitos que aparezcan más idóneos, de los genes sobre los que convendría realizar la aproximación sugerida. Para esto, se hace imperativo el uso de herramientas bioinformáticas.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. ANTECEDENTES

3.1.1. Conceptos clave en parasitismo

La palabra “parásit” proviene del griego *παράσιτος* y significa literalmente “junto al alimento”, es decir comensal. No es esencial saberlo, pero es importante entender la literalidad del término. El concepto biológico comenzó a ser desarrollado por los médicos veterinarios romanos y con él señalaban a aquellos animales que vivían junto a otros y se alimentaban a expensas de estos; sin embargo, su inclusión dentro de la ciencia biológica de la manera en que lo entendemos actualmente no ocurrió hasta finales del siglo XIX. El parasitismo es una modalidad de simbiosis en la cual dos organismos de diferente especie conviven estableciendo una relación antagónica, donde el más pequeño de estos, el parásito, vive de forma permanente o temporal en el otro, el huésped, por norma un organismo más complejo, alimentándose de él y depauperándolo sin llegar a matarlo, aunque causándole un daño potencial o efectivo. Dependiendo de la antigüedad de la asociación huésped – parásito (la antigüedad en términos de asociación entre los linajes) y de las características del respectivo proceso de coadaptación, el parásito depende, en mayor o menos medida, metabólica y evolutivamente del huésped, pudiendo decirse que el huésped es el medio ambiente del parásito, al menos durante determinados periodos de su vida. El parásito puede provocar la respuesta inmune del huésped, sin embargo cuando se trata de endoparásitos, estas relaciones tienden a evolucionar de forma crónica más que aguda. La selección natural ha conducido a muchas especies parasitarias a desarrollar eficaces medios para evadir las defensas inmunitarias del huésped (es decir, han persistido las variantes ventajosas en este aspecto dentro de las disponibles en los diferentes grupos), y la historia de esta “guerra

armamentista” entre huéspedes y parásitos es una parte apasionante del estudio patológico y parasitológico.

El parasitismo es sin duda uno de los modos de vida más exitosos conocidos si consideramos el número de veces que ha evolucionado de manera independiente y la enorme diversidad de especies parasitarias que existen. Prácticamente cada especie animal es infectada por al menos un parásito y hay al menos tantas, y probablemente más, especies parasitarias que especies de vida libre (Huyse et al., 2005). En lo que respecta al ser humano, incluso hoy en día, con los avances médicos y la expansión de una cultura donde el higiene tiene un lugar preponderante, se calcula que un tercio de la población se encuentra infestada por parásitos helmintos, metazoos que sólo constituyen una fracción de todas las formas parasitarias que existen (Caballero, 1998). Por supuesto, la mayoría de estos casos corresponden a sociedades del tercer mundo.

Dentro de la literatura, los conceptos que se manejan en parasitología y patología, y en sus ramas históricas (paleoparasitología y paleopatología), no son siempre unívocos cuando dicen relación con lo que se entiende por parasitismo. Una definición operacional de parasitismo podría ser la de relación biológica heteroespecífica en la cual uno de los organismos, el parásito, depende metabólicamente del otro, el huésped. La relación puede ser permanente, como en muchos endoparásitos, o temporal u ocasional, como en muchos ectoparásitos. En términos estrictos, suele referir a una relación trófica, sin embargo no es poco común extrapolarla hasta el nivel ecológico. De esta manera, entran también dentro de la clasificación, en muchas oportunidades, organismos que obtienen otra clase de beneficio de sus huéspedes, por ejemplo, protección de los depredadores o cuidados parentales. Cuando este tipo de interacciones tienen una larga historia dentro de los linajes participantes, no parece ser inadecuado hablar de parasitismo ya que las consecuencias evolutivas pueden ser análogas, de manera que es posible emplear las mismas herramientas conceptuales para todos los casos. Sin embargo, en general la definición de parásito engloba a aquellos organismos que viven directamente a expensas del huésped.

Esta definición, como vemos, sigue siendo muy amplia, incluyendo a una gran cantidad de linajes participes de varios reinos. A pesar de que los microorganismos patógenos como las bacterias y sobre todo los virus, suelen distinguirse de los demás parásitos debido a razones metodológicas e históricas, siendo su estudio parte de la microbiología, no escapan por esto a que la relación biológica que establecen con el ser humano y otros animales superiores pueda ser entendida y estudiada con los mismos conceptos con los que se abarca al resto de los parásitos y en la literatura parasitológica general comúnmente forman parte de lo que se conoce y se entiende como parásitos. Sin embargo, tradicionalmente la parasitología se ha remitido al estudio de los organismos patógenos eucariontes, unicelulares como los protozoos, o metazoos, como los helmintos y los artrópodos de vida parasitaria.

Otro problema conceptual que puede conducir a confusiones es la distinción entre las diferentes relaciones tróficas interespecíficas: parasitismo, comensalismo, simbiosis, mutualismo, depredación, etc. Las definiciones de éstas suelen variar de uno a otro autor. En algunas ocasiones, todas estas clases de relaciones biológicas son englobadas bajo el concepto de parasitismo. En el presente estudio, limitaremos el concepto de parasitismo a la definición ya enunciada.

El huésped es el medio ambiente del parásito, un organismo más complejo de donde el parásito obtiene su alimento y desarrolla sus funciones vitales. Pero el ciclo de vida de un parásito no se limita necesariamente a un solo huésped. El parásito puede tener un ciclo complejo, que lo haga transitar en diferentes estadios por múltiples huéspedes de distintas especies, inclusive pasando por etapas de vida libre. Aquel huésped que alberga al parásito adulto y, en el caso de los metazoarios, en cuyo cuerpo el parásito se reproduce sexualmente, es conocido como huésped primario o definitivo. En los huéspedes intermediarios o secundarios se desarrollan otras fases de la vida del parásito, llevándose a cabo los estadios larvarios y los procesos asexuales, cuando corresponde.

Se llama vector al organismo que transmite un agente infeccioso o infestante desde los huéspedes afectados a otros que aún no portan a dicho agente. La infección puede ocurrir por inoculación al picar, por depositación del material infectante en la piel o mucosas o mediante la contaminación de los alimentos u otros objetos (Botero y Restrepo, 2003). En parásitos metazoos, como los helmintos, y en parásitos protozoos, especies de artrópodos particulares para cada especie de parásito suelen cumplir la función de vectores; los parásitos desarrollan parte de sus ciclos de vida en ellos, en algunos casos multiplicándose en su interior, hasta alcanzar su etapa infectante. Así, los vectores pueden ser sólo mecánicos, transportando el agente patógeno de un huésped a otro, o biológicos, cuando los parásitos se multiplican o se transforman dentro de ellos. La mayoría de los vectores son insectos hematófagos. La diferencia entre un vector y un huésped secundario no está del todo clara en la literatura, pero en términos estrictos se puede decir que todo vector sería un huésped y que la cualidad de vector de un organismo huésped depende de su capacidad de transmitir el parásito a un organismo de otra especie. Como huésped, el vector puede ser un huésped intermediario, en cuyo caso se trataría de un vector biológico, o un huésped paraténico o transportador, que corresponde a la clase de huésped que presenta formas larvarias que no se desarrollan en él, caso en el cual sería un vector mecánico.

En parasitología, el concepto de población de parásitos está dividido en dos. Por una parte, la infrapoblación refiere a los parásitos de una misma especie que habitan dentro de un organismo individual. Metapoblación es el concepto que señala a todas las infrapoblaciones que están afectando en un momento dado a una misma población de organismos huéspedes, es decir, la suma de las infrapoblaciones que simultáneamente infestan a una población. Esta distinción será esencial a la hora de comprender en términos poblacionales las relaciones entre parásitos y huéspedes.

La patogenicidad de los parásitos, es decir, la cualidad de provocar la respuesta inmune del huésped, es una propiedad no intrínseca de los parásitos. En otras palabras, un parásito no es por definición un agente patógeno, aunque muchos son capaces de producir, inducir o facilitar enfermedades en el ser humano. En general, las enfermedades parasitarias, particularmente las causadas por metazoarios, son una función de la densidad de parásitos que alberga un organismo, es decir, del tamaño de la infrapoblación. Un tipo de daño que los parásitos pueden causar es el detrimento de ciertos factores nutricionales, lo que se produce cuando compiten por éstos con su huésped. La desnutrición a consecuencia de este proceso puede facilitar la ocurrencia de otras patologías. Otra forma en que un parásito puede alterar la salud de su huésped está relacionada con que, en tanto que organismo vivo, el parásito produce sustancias de excreción que deposita en el medio donde se encuentra alojado. En ambos casos es evidente por qué la densidad de la infrapoblación está directamente relacionada con el desarrollo de la enfermedad. Finalmente, el parásito posee antígenos que son capaces de inducir la reacción del sistema inmunológico en el huésped, dando origen en muchos casos a afecciones autoinmunes.

Como fenómeno del mundo biológico, el parasitismo ha proveído a los paleopatólogos las evidencias más antiguas de la presencia de la enfermedad en la tierra (Aufderheide y Rodríguez-Martín, 1998: 222). Uno de los aspectos que ha promovido las investigaciones sobre la historia del parasitismo humano es el hecho de que este tipo de asociación entre organismos constituye una condición profundamente vinculada a los demás factores ecológicos, de forma que su conocimiento es capaz de informarnos acerca de un contexto particular en el que podemos ubicar al ser humano.

Muchos parásitos tienen ciclos de vida complejos y únicos, siendo la exposición a estos parásitos comúnmente el resultado de la intrusión del ser humano en dichos ciclos, convirtiéndose de esa forma en un huésped accidental. El conocimiento de las características particulares de sus ciclos de vida y de su etología puede permitir que el hallazgo de un parásito que infestó a una población antigua aporte antecedentes respecto

a aspectos de la conducta humana como la dieta, las actividades ocupacionales o la domesticación de ciertos animales. Más aun, el descubrimiento de los parásitos que afectaron al ser humano en el pasado y la reconstrucción de la historia de los fenómenos parasitarios, puede hablarnos además de procesos pertinentes a la historia evolutiva humana e incluso a la historia (sin apellido) de los hombres y mujeres sobre la tierra, de eventos que pueden ser difíciles o imposibles de deducir por medio de otra clase de evidencias, como la intrusión dentro de nuevos entornos, los contactos entre poblaciones antiguas, el aislamiento y división de grupos, etc.

Para acceder a todas esas categorías de datos que las especies parasitarias pueden aportar, hay que aprender a enfocar la mirada en los problemas particulares para saber a qué parásito y en qué nivel (molecular, morfológico) preguntar. En tanto datos que pueden revelar partes hasta ahora veladas de la historia humana, muchas disciplinas pueden hacer uso y acceder a los parásitos, por medio de variadas metodologías; sin embargo, debido a la amplitud de perspectivas y posibilidades que ofrece, el abordaje de los parásitos como fuente de información del pasado ha ido tornándose en una disciplina científica en sí misma, la incipiente paleoparasitología.

La paleoparasitología es la disciplina que busca reconstruir la historia del parasitismo. Esta reconstrucción no es una tarea sencilla, pero pueden dar importantes frutos en particular atendiendo al hecho de que la historia evolutiva de los parásitos es inseparable de la de sus huéspedes. Es probable que muchos de los procesos evolutivos y microevolutivos que vive el huésped (como especie) en su historia, afecten al parásito. Por lo tanto, es dable aceptar la hipótesis de que, conociendo la historia natural del parásito y las características de su asociación parasitaria, podemos indagar en la historia natural, macro y microevolutiva del huésped.

En este estudio se propondrá una perspectiva en la la antropología física converge con una visión paleoparasitológica, lo que puede constituirse en una importante fuente de aportes para desentrañar algunos aspectos particulares del pasado humano que por otros

medios se hacen a veces imposibles de investigar. En muchos aspectos, los parásitos son una fuente de información más rica y más fácil de pesquisar que sus huéspedes. No es desdeñable el hecho de que aportan datos independientes de aquellos que podemos obtener directamente del huésped. No obstante ello, la reconstrucción de la historia del parásito sigue siendo una tarea ardua y compleja ya que la evidencia es rara y las interpretaciones no son fáciles de realizar. La utilización de los parásitos como marcadores biológicos permite una nueva aproximación en lo que concierne a la investigación de las migraciones humanas del pasado. Volveremos a la paleoparasitología más adelante, pero antes es preciso detenernos en la paleogenética. Nuestro objetivo es exponer como esta perspectiva puede enriquecerse enormemente con las aportaciones de las herramientas de análisis molecular.

3.1.2. Paleogenética y Filogenética

La paleogenética es el conjunto de técnicas y metodologías que permiten conocer a los organismos del pasado por medio de los fragmentos de su DNA que se han conservado hasta nuestros días. La principal diferencia en términos metodológicos respecto a la genética molecular es que la paleogenética debe resolver el problema de la degradación que sufre la molécula de DNA después de la muerte celular. En las células vivas, la integridad de la molécula de DNA es perpetuada por un proceso enzimático de reparación, el cual cesa después de la muerte del organismo. Posteriormente, en condiciones naturales, la molécula es rápidamente degradada por otras enzimas. En adición a este proceso natural, el DNA puede verse expuesto a otros factores destructivos, como hongos, bacterias y algunos insectos que se alimentan y degradan macromoléculas (Päävo et al., 2004). Sólo en raras circunstancias el DNA escapa de la degradación, por ejemplo al ser absorbido rápidamente en matrices minerales luego de la muerte del organismo. Sin embargo, el daño molecular inevitablemente se incrementará a medida que transcurre el tiempo, afectando la integridad de la molécula mediante la

perdida irreversible de secuencias de nucleótidos. El investigador en paleogenética debe lidiar con la fragmentación del DNA fósil de manera análoga a la que el paleontólogo debe resolver la inevitable fragmentación del registro fósil. Se han desarrollado herramientas técnicas y conceptuales para procurar superar estas dificultades, pero indudablemente la mejor estrategia será siempre trabajar con un material conservado en las mejores condiciones posibles y que sea posible recuperar en grandes cantidades.

El análisis de DNA antiguo obtenido de restos arqueológicos ha sido uno de los avances metodológicos más importantes de las últimas décadas para las disciplinas que estudian la historia evolutiva del ser humano y de otras especies, así como para la realización de reconstrucciones sincrónicas de las sociedades antiguas. Mediante las herramientas de análisis molecular y la bioinformática que simplifica (o hace posible) manejar las enormes cantidades de datos con que se debe trabajar en esta área, se han conseguido datos que antes eran impensables. En el campo de la paleopatología, por ejemplo, se han logrado detectar fehacientemente agentes patógenos que afectaron a un individuo o a una población en tiempos antiguos (e.g. Kolman et al., 1999; Konomi et al., 2002). El análisis de DNA antiguo basado en PCR (*Polymerase Chain Reaction*, o Reacción en Cadena de la Polimerasa) ha sido empleado con éxito para detectar y amplificar DNA de parásitos del pasado. Con esta aproximación, el espectro de enfermedades infecciosas y parásitos que pueden ser estudiados a partir de restos antiguos ha sufrido un considerable aumento, siendo posible obtener un diagnóstico preciso a partir de cantidades relativamente pequeñas de DNA aunque ningún signo patognomónico haya podido ser observado o ni siquiera se haya producido en el organismo afectado. Se han recuperado exitosamente fragmentos de genes de organismos procariontes y eucariontes a partir de huesos y otros tejidos humanos (e.g. Drancourt et al., 1998; Kolman et al., 1999; Guhl et al., 1999; Aufderheide et al., 2004). Una clase de material que ha demostrado ser una buena fuente de DNA antiguo son los coprolitos (Pääbo et al., 2004). Loreille y cols., (2001), demostraron que es factible extraer, amplificar y secuenciar DNA de huevos de parásitos (helminthos) obtenidos de coprolitos de más de 600 años de antigüedad.

Experimentalmente, se ha recuperado con éxito material genético de parásitos intestinales a partir de excrementos humanos deshidratados (Machado et al., 2003).

La genética de poblaciones, por su parte, también ha permitido aproximarse al pasado mediante la comparación de la variabilidad genética entre diferentes grupos de organismos actuales, pudiendo a partir de ello establecer relaciones genealógicas entre los grupos humanos y animales de la actualidad, así como determinar de forma aproximada los intervalos de tiempo transcurridos desde que conformaban una sola población o especie.

La posibilidad de inferir distancias temporales entre organismos a partir de sus distancias genéticas está sustentada por la observación de que a ciertos niveles las mutaciones ocurren en tasas constantes. Según el modelo de evolución neutral propuesto por Kimura a partir de la década de 1970, los genes que codifican proteínas poco importantes o que no codifican proteínas funcionales, presentarán mayor variación nucleotídica que aquellos genes que codifican para proteínas importantes (Avice, 2004). Estudios de la variación del DNA han confirmado esta proposición (Kimura, 1991), al grado que actualmente los biólogos moleculares usan de forma rutinaria los niveles de variación de secuencias entre especies para inferir si una nueva secuencia descrita de DNA posee una función importante. De la misma manera, se han desarrollado herramientas y técnicas para deducir las tasas de evolución de los organismos, de forma que mediante el análisis de su variabilidad se pueden establecer relaciones históricas entre diferentes linajes, produciendo árboles filogenéticos cada vez más confiables. Teóricamente, conociendo la tasa de evolución molecular de una especie, es posible comparar dos organismos y determinar su distancia biológica en términos temporales, es decir, inferir si dos especies son monofiléticas y hace cuanto tiempo dos linajes formaban parte de una misma rama. Este es el conocido reloj molecular. Sin embargo, el empleo de relojes moleculares no está limitado a aquellos genes que evolucionan de forma neutral, es decir, no es incompatible con escenarios donde la selección sea el factor preponderante en la evolución (la teoría de Kimura favorece a la deriva genética

como principal mecanismo). Teóricamente cualquier gen puede ser usado como reloj, en tanto su modo de evolución sea comprendido (Avice, 2004). Además de la hipótesis defendida por Kimura, existe otro reloj molecular, el reloj de proteína, propuesto por Zuckerkandl en 1965, modelo basado en la observación de que los cambios de aminoácidos en las proteínas tienden a acumularse linealmente con el tiempo (*ibid*). La existencia del reloj mismo no es en la actualidad un tema de discusión, lo que se debate es su exactitud y la distribución estadística del modelo subyacente. Su calibración depende tanto de conocer la tasa de mutación del gen que será tomado como referencia, como poseer algún otro indicador temporal más o menos confiable, en general, material fósil bien datado.

El análisis filogenético basado en caracteres del DNA se ha convertido en una herramienta sumamente poderosa en el terreno de la biología evolutiva. Esto se relaciona por una parte con el desmesurado caudal de datos moleculares que actualmente está disponibles de cualquier tipo de organismo, y por la otra, con el desarrollo tecnológico que ha tenido la informática, lo que ha permitido la emergencia de la bioinformática, un conjunto de herramientas y métodos indispensables para el manejo de dicho caudal de información en constante aumento.

Hacia 1980, Stephen Jay Gould ya profetizaba que las filogenias moleculares se convertirían en la herramienta fundamental del estudio de las relaciones evolutivas, permitiendo indagar ahí donde los métodos tradicionales de morfología comparada no podían (Gould, 1986: 272). En la actualidad, el análisis filogenético molecular ha permitido aproximarse a la resolución de problemas biológicos que van mucho más allá de la clasificación de los organismos.

En la medida en que la tecnología permitió conocer y manejar datos de variabilidad intraespecífica en las secuencias de DNA, se hicieron posibles aproximaciones a problemas que parecían irresolubles. Este mismo proceso ha ido permitiendo la convergencia de disciplinas que en principio parecían dispares. La filogeografía,

disciplina que enfatiza los aspectos históricos de la actual distribución de los linajes génicos, puede considerarse como una subdisciplina de la biogeografía histórica, que integra conceptos y técnicas de genética molecular, genética de poblaciones, demografía, sistemática filogenética, etología y paleontología (Avice, 2004). La filogeografía ha permitido aplicar el análisis de genealogías génicas al estudio de la evolución de las poblaciones, permitiendo sacar conclusiones con respecto a las secuencias de colonización, diversificación y extinción de los linajes génicos en determinadas áreas.

La convergencia entre la paleogenética y los métodos de inferencia filogenética ha hecho posible estimar relaciones entre especies vivas y extintas (Maynard Smith, 1998). Los avances recientes en este campo, tanto en métodos lógicos como computacionales, han incrementado de forma importante la confianza con que estas estimaciones pueden tomarse. A grandes rasgos, el principio subyacente de estos métodos es que las especies que comparten un gran número de características provienen de un ancestro común más reciente que aquellas que ostentan pocos rasgos comunes. El avance en la secuenciación del DNA nos puede revelar muchas más similitudes y diferencias entre las especies de las que se pueden encontrar en su anatomía, volviendo esta clase de análisis cada vez más precisos e informativos.

En este contexto es que el análisis molecular de los parásitos, conociendo lo estrecha que puede ser la vinculación evolutiva con sus huéspedes, aparece a primera vista como un área de enorme potencial indagatorio para la antropología física. Si la filogenia de un parásito puede ser un reflejo de la de su huésped, como demuestran múltiples estudios (Page, 2003), principalmente enfocados a niveles macroevolutivos y en torno a los fenómenos de coevolución, pero existiendo también algunos abocados a procesos de menor profundidad temporal, entonces cabe proponer que conociendo sólo una de aquellas filogenias, la del parásito, podemos hacer inferencias relativamente confiables, dependiendo de las características particulares de la relación trófica, respecto a la otra filogenia, la del huésped.

3.1.3. Paleoparasitología

Entre los factores ecológicos que ejercen influencias sobre las poblaciones naturales, los parásitos y las enfermedades parasitarias tienen un rol central, no sólo en los grupos humanos sino que entre todas las formas de vida sobre la tierra. Durante el curso de su evolución y de su expansión a través del mundo, el ser humano ha ido conquistando continuamente nuevos ecosistemas y diversificando sus modos de vida, accediendo a nuevos tipos de dieta y, de forma creciente, a ambientes más húmedos que su entorno ancestral, lo que ha resultado en la exposición a parásitos que han evolucionado en otros huéspedes. Al volverse comensales de algunas especies y domesticar otras, los humanos han permitido a los parásitos pasar desde los animales al ser humano y, tal vez, viceversa (Loreille y Bouchet, 2003). La vida social, particularmente intensa entre los seres humanos, ha favorecido la transmisión, perpetuación y evolución de muchos parásitos, así como parte de la cultura material humana (la ropa, la vivienda, las ciudades, etc.) han proveído a los parásitos de nuevos nichos ecológicos a los que acceder.

La paleoparasitología es una disciplina en la que convergen la arqueología y la parasitología. Los aportes que hace el estudio de los parásitos hallados en contextos arqueológicos a la comprensión de las sociedades del pasado y de la evolución biológica del ser humano, en muchos casos no pasan de ser datos sincrónicos de una relevancia bastante relativa. La integración los datos moleculares en este tipo de enfoques, es decir, de los aspectos paleogenéticos de los parásitos antiguos, ha permitido utilizar la evidencia paleoparasitológica en la resolución de nuevas preguntas en torno a procesos en sistemas íntimamente vinculados. Como una disciplina auxiliar a la arqueología, la paleoparasitología hace su aporte en tanto se aprecia el significado ecológico del fenómeno del parasitismo.

La paleoparasitología puede ayudar a comprender el entorno y el comportamiento de una población dada en un momento determinado proveyendo valiosa información

respecto al curso histórico de las enfermedades parasitarias, a la antigüedad de la relación entre humanos y parásitos, a la dispersión parasitaria, así como también puede aportar datos que permitan entender otros eventos pasados de la evolución humana como los procesos de migración, de contacto entre poblaciones, de cambio de hábitos culturales y de acceso a nuevos entornos en el pasado (Whiteman y Parker, 2005).

En parasitología, el uso de los parásitos para inferir la filogenia de sus huéspedes es una aproximación que ha sido usada por años. El empleo tradicional de los parásitos en este campo dice relación con que se ha demostrado que muchos parásitos suelen tener una morfología más conservadora que sus huéspedes, es decir, en ese sentido evolucionan de forma mucho más paulatina, lo que ha permitido a los taxonomistas encontrar caracteres compartidos entre diferentes linajes, indicativos de relaciones entre estos, que se han perdido entre los linajes huéspedes, pudiendo establecer de ese modo vinculaciones entre estos últimos (Whiteman y Parker, 2005). Pero con el advenimiento de la secuenciación de DNA, de la técnica de PCR y de herramientas analíticas cada vez más realistas para la construcción de filogenias y para la genética de poblaciones, los biólogos evolutivos han podido prescindir de los parásitos a la hora de estimar las genealogías y el flujo genético, ya que dicha información puede extraerse directamente de los genes de los organismos.

Pero esta ruta de investigación “directa” tiene la desventaja de ser poco aplicable a un nivel microevolutivo. Incluso el DNA mitocondrial, usado extensamente debido a que ofrece mayor variabilidad que el DNA nuclear, muestra una resolución muy pobre en escalas de tiempo acotadas a algunos miles de años, resultando inútil, por ejemplo, para percibir diferencias entre dos poblaciones separadas y aisladas en los últimos 1000 años (Wirth et al., 2004). Así, la baja tasa de variabilidad genética entre y a través de las poblaciones humanas, aun en espacios temporales y geográficos relativamente grandes, obscurece la capacidad de inferir procesos genéticos históricos así como demográficos contemporáneos.

La genética de poblaciones aplicada a los parásitos humanos puede ofrecer una vía para investigar la historia evolutiva de sus huéspedes y los procesos demográficos que estos vivieron, ya que, en contraposición a lo que se establece a partir del análisis de su variabilidad taxonómica, la evidencia indica que a nivel molecular los parásitos evolucionan más rápido que sus huéspedes (Page et al., 1998).

Son abundantes las evidencias que existen de que, más allá de los aspectos taxonómicos, que como se ha indicado, en los parásitos presentan una tendencia relativamente conservadora, la tasa de evolución molecular es en el DNA de las especies que tienen esta estrategia de vida, más rápida con relación a locis homólogos de sus huéspedes (Page, 2003; Whiteman y Parker, 2005). El huésped representa un ambiente que cambia rápidamente, lo que hace que el número de factores potenciales de diversificación sea mayor para los parásitos que para los organismos de vida libre. Varios estudios cofilogenéticos muestran una tasa de la evolución de las secuencias moleculares mayor en los parásitos que en sus huéspedes (Huysse et al., 2005). Esto permite postular que procesos en la historia de los huéspedes (el “entorno” de los parásitos) que no alcanzan a verse reflejados en sus genes, tanto mitocondriales como nucleares, pueden ser indagados a partir de las diferencias a nivel genético entre las poblaciones de sus parásitos. Es decir, no sólo puede esperarse que el DNA y RNA de los parásitos presenten una variación genética mayor en relación con sus huéspedes, el análisis de esta divergencia en términos de variación molecular entre metapoblaciones distintas de un parásito en diferentes poblaciones de sus huéspedes humanos puede revelar la historia evolutiva de los huéspedes, aunque la variabilidad en el DNA de éstos no llegue a reflejar dichos procesos. De esta manera, sería posible establecer relaciones entre poblaciones a partir del análisis de las diferencias genéticas entre sus respectivas cepas (metapoblaciones) de una especie de parásito (Wirth et al., 2004; Li et al., 1999).

Al poner el foco sobre este dato, el tipo de indagación y de relaciones que permiten establecer los parásitos respecto a sus huéspedes exigen un cambio de punto de vista, al promover la generación de nuevas preguntas a partir de la convergencia de la

parasitología con otras disciplinas. Así, mediante su convergencia con las emergentes técnicas paleogenéticas, la paleoparasitología permite la generación de aproximaciones novedosas al estudio de la historia natural del ser humano.

Esto puede aportar una herramienta útil para afrontar el problema de la caracterización de las relaciones evolutivas entre poblaciones humanas y sus patrones históricos de migración. Relaciones genealógicas entre poblaciones y flujos genéticos han sido inferidas con éxito entre y en poblaciones de organismos patógenos humanos persistentes como la bacteria *Helicobácter pylori* (Wirth et al., 2004) y el virus HTLV-I (Li et al., 1999).

En la investigación de Wirth y colaboradores (2004) se demostró que mediante el análisis de las secuencias de DNA de *H. pylori* se podía lograr distinguir entre poblaciones humanas estrechamente relacionadas, resultando dicho análisis más informativo que los marcadores genéticos humanos clásicos, como el DNA mitocondrial o los microsatélites, para dilucidar las migraciones poblacionales de los últimos 5000 años.

Las inferencias de la historia genealógica de los huéspedes pueden ser muy confiables cuando se emplea la información genética de patógenos de transmisión vertical. La genealogía genética de los parásitos transmitidos de esta manera contiene valiosa información potencial respecto a las relaciones genealógicas de los huéspedes infectados debido a que la transmisión de los genes de los huéspedes y de sus parásitos es similar, de forma que ambos linajes genéticos se ven perjudicados, beneficiados y alterados por los mismos procesos y similares mecanismos.

Aquellos parásitos cuya transferencia se realiza de forma horizontal entre los huéspedes y las poblaciones de huéspedes pueden ser útiles para realizar otra clase de inferencias. Los eventos pasados de dispersión de los huéspedes pueden haber provocado flujos

genéticos detectables entre los patógenos sin que haya ocurrido lo mismo entre los huéspedes. De esta manera, los genes de los parásitos de transmisión horizontal pueden ser una fuente de información epidemiológica respecto a los patrones históricos de transmisión de los parásitos entre los huéspedes, y entregar por lo tanto antecedentes respecto a contactos entre poblaciones humanas donde no existió flujo genético o no es posible detectarlo mediante los marcadores genéticos tradicionales. De esta manera, para poder realizar inferencias relativas a la historia natural de los huéspedes humanos a partir de la construcción de árboles filogenéticos de genes de sus parásitos, es preciso conocer con la mayor exactitud los modos de transmisión, los ciclos de vida y, en general, la etología de dichos parásitos, porque esas características serán las que determinarán la clase de preguntas y las formas de aproximación que permite determinado organismo.

Para comprender esto se puede sugerir la siguiente analogía: así como las filogenias de genes individuales no son necesariamente congruentes con la de los organismos de donde proceden dichos genes, las filogenias de parásitos individuales no tienen porque ser congruentes con las de sus huéspedes. Así como procesos tales como la duplicación de genes, polimorfismos alélicos, la transferencia horizontal y la distribución de linajes pueden producir árboles incongruentes entre genes y especies (Page, 2003), procesos análogos pueden provocar las mismas distorsiones entre las filogenias de huéspedes y parásitos. De la misma manera que se deben establecer criterios a la hora de realizar un estudio filogenético basado en genes individuales, para realizar extrapolaciones a la historia natural humana a partir de los árboles de sus parásitos deben establecerse criterios en la elección de los parásitos que servirán como marcadores biológicos en un estudio dado, procurando que sus características permitan eludir los problemas que harían incongruente su historia evolutiva y la de sus huéspedes. Estos problemas refieren a aspectos observables de la etología de los parásitos, por ejemplo, la poca especificidad respecto a sus huéspedes, lo que permite el cambio de un huésped a otro, o el poseer

etapas de vida libre, lo que no obliga al parásito a moverse, temporal y espacialmente, con su huésped.

El conocimiento preciso de los ciclos de vida y modos de transmisión de los parásitos, puede permitir conocer o corroborar eventos biológicos, demográficos y sociales de la antigüedad. Reed et al. (2004), por ejemplo, mediante el análisis genético de los linajes de piojos (*Pediculus humanus*), infieren que en el pasado habría ocurrido un contacto físico directo entre formas arcaicas y modernas de *Homo*, debido a que ese es el único medio que permitiría el intercambio de dichos linajes. Siguiendo a Whiteman y Parker (2005), es posible sostener que la mejor estrategia para la implementación de la genética de poblaciones de parásitos consiste en enfocarse en aquellos parásitos permanentes y de transmisión directa (los que dependen de un contacto huésped con huésped) y en los que producen infecciones persistentes y crónicas, como en el caso de *Helicobacter* y de los Helmintos.

3.2. DELINEAMIENTO TEÓRICO DE LA PROPUESTA

Coespeciación es la especiación conjunta de dos o más linajes que están ecológicamente asociados. El ejemplo paradigmático de esta clase de asociaciones es el de parásito y huésped. Si la coespeciación fuera el único proceso ocurriendo, las filogenias de huésped y parásito serían imágenes especulares exactas la una de la otra (Page, 2003). Sin embargo, lo más frecuente es que el proceso esté acompañado de otros fenómenos. Los parásitos pueden saltar entre linajes, especiarse de forma independiente, extinguirse, fracasar en colonizar a todas las especies descendientes del linaje huésped o no especiarse cuando el huésped lo hace. Como ya señalamos antes, estos procesos son análogos a los que puede experimentar un gen.

Es importante distinguir entre coespeciación y coevolución. Si definimos coevolución como la evolución de adaptaciones recíprocas en huéspedes y parásitos, es claro que los linajes pueden coevolucionar sin coespeciar. En las escalas de tiempo que nos interesan en este estudio, el proceso importante es el de coevolución, que es un proceso activo. La coespeciación, como el concepto mismo de especie, es un constructo teórico potencialmente prolífico para la investigación de la historia natural de un linaje, pero su punto de partida es el concepto de coevolución. Sin embargo, demostrar un proceso de coevolución es un tema complejo. Cambios en caracteres correlacionados en huéspedes y parásitos pueden reflejar procesos diferentes a la coevolución. Para algunos investigadores, coespeciación es la coevolución ocurriendo en tiempos macroevolutivos, y adaptación recíproca o coadaptación es coevolución ocurriendo en tiempos microevolutivos. Debido a las dificultades del concepto de especie y a la carga del concepto de coespeciación, que sugiere una naturaleza dirigida hacia un fin, en ciertos casos se ha optado por los términos de cofilogenia o cladogénesis paralela (Page, 2003).

Estos conceptos nos interesan aquí por dos motivos. Primero, el concepto biológico de coevolución es central en la hipótesis propuesta, ya que asumimos que la selección natural hace congruentes las historias naturales de dos linajes que están siendo sometidos a presiones evolutivas originadas por los mismos factores; esto, a pesar de que en escalas microevolutivas los efectos del proceso de coevolución en un sentido estricto, no son observables. En segundo lugar, la coevolución en términos macroevolutivos es un constructo importante para nuestros propósitos ya que su estudio y determinación aportarán un dato esencial sobre la naturaleza de la relación entre los diferentes parásitos que estudiaremos y el ser humano. Gracias a dicha herramienta teórica podremos aproximarnos a revelar la antigüedad de la relación parásito – huésped: ¿Es el parásito una asociación antigua o una adquisición reciente? Responder esta interrogante, como se verá, será una información esencial para tratar con otros problemas que se desprenden de nuestra investigación.

Sin embargo, es el primero de los puntos el que representa en principio el mayor interés. Es preciso entender de qué forma pueden aportar los parásitos al conocimiento de la historia natural humana, y no sólo entenderlo sino que además probarlo suficientemente o lógicamente, y en este sentido la palabra clave es *coevolución*. Si bien hay que ser muy cuidadoso al describir una interrelación entre especies como el resultado de un proceso coevolutivo, ya que, por ejemplo, coadaptación no implica coevolución, y por otro lado, aunque la asociación entre dos especies sea perfecta puede no haber existido un proceso coevolutivo (Soler, 2002), si tenemos suficiente confianza en que las topologías de dos filogenias de dos especies son congruentes (más similares que lo estadísticamente esperable), deberíamos poder decir que existe una “tendencia” a la coevolución. Sobre dicha tendencia podremos sustentar en parte nuestra hipótesis.

Como se ha dicho, debido a la alta tasa de evolución molecular de los parásitos respecto a sus huéspedes, su variación genética es mayor y más informativa en escalas de tiempo más cortas que las de sus huéspedes; debido a su tendencia a coevolucionar, tendencia en la que podremos confiar en la medida en que conozcamos la antigüedad de la asociación coevolutiva de ambas especies y la etología del parásito (especificidad, tipo de transmisión, modo de infección, etc.), en determinados casos la filogenia del parásito debería reflejar procesos congruentes con la historia natural de sus huéspedes, pero que no han alcanzado a estamparse en términos de variabilidad en su pool genético.

Para sintetizar y aclarar esta posición diremos: en primer lugar, la coevolución a nivel molecular sólo es demostrable en grandes escalas de tiempo; sin embargo, conocemos las características de las relaciones interespecíficas que constituyen fenómenos coevolutivos. Es decir, a partir de la observación ecológica y etológica, podemos deducir con diferentes niveles de confianza cuales pares de especie presentan una mayor tendencia coevolutiva; Si sabemos que el ser humano y otra especie (un parásito) están coevolucionando, si bien no podremos apreciar dicho fenómeno a nivel molecular, podemos sustentar cierta confianza en que en determinados niveles y en determinados

genes existen variaciones que son correspondientes entre sí, en términos temporales, ya que se trataría de genomas que están expuestos a los mismos procesos evolutivos; Sin embargo, dichas variaciones sólo podrán ser detectadas en los organismos y genomas de rápida variación nucleotídica, es decir, en el organismo parasitario y, de preferencia, en su genoma mitocondrial. El efecto que estos procesos evolutivos tiene en el genoma nuclear humano sólo sería posible observarlo en niveles de profundidad temporal demasiado grandes para que nos resulte informativo de procesos históricos como el poblamiento de América; Sobre este proceso se establece entonces la siguiente premisa: la variación genética existente dentro de un linaje parasitario que coevoluciona con el ser humano se corresponde con una variación dentro del linaje humano, o más bien, dentro de la población que porta a dicho parásito, que es invisible o escasamente visible a nivel molecular humano. No obstante, las relaciones genealógicas dentro del linaje parasitario informarían de relaciones genealógicas dentro del linaje del ser humano. Todo lo cual, por cierto, depende de las características de la relación trófica entre el ser humano y el linaje parásito.

Para cierto tipo de análisis nos bastará con inferir algún grado de paralelismo entre las historias naturales de huéspedes y parásitos, lo que se puede lograr mediante datos ecológicos y etológicos, sin que sea indispensable conocer las filogenias de ambas especies involucradas en la relación, que en el caso del ser humano, a escalas de tiempo de pocos miles de años, es más bien un árbol de un sola rama, poco informativa incluso siendo construída a partir de genes altamente variables. Podemos inferir que bajo ciertas circunstancias la relación trófica de parásito y huésped se puede volver lo suficientemente estrecha para que la historia del parásito sea informativa de la del huésped, sin que haya un proceso evolutivo detectable a nivel molecular. En el fondo, se trata de entender a los parásitos como portadores de un genoma diferente al humano pero que transita temporal y espacialmente por su cuerpo, de manera análoga a, por ejemplo, las mitocondrias y su genoma. El genoma del parásito aporta datos independientes a su huésped, y teniendo la suficiente confianza de que el parásito se

mantuvo “junto” al huésped por miles de años, confianza que adquiriremos mediante el conocimiento del comportamiento actual del parásito, podemos sostener que la filogenia de dicho parásito también refleja los procesos naturales vividos por el huésped: migraciones, contactos entre grupos, fusiones, escisiones, cuellos de botella, etc.

Las circunstancias a través de las cuales podremos definir la naturaleza de la relación huésped-parásito y la clase de información que será susceptible obtener de un parásito usado como marcador biológico humano, dependerán de las características del ciclo de vida del parásito, de su tipo de transmisión, de su modo de infección, de su especificidad ecológica y de su especificidad de huésped. Además jugarán un rol en esta descripción algunos procesos históricos, por ejemplo los aislamientos geográficos.

Así como el concepto de “random mating” o emparejamiento aleatorio es una abstracción útil en el estudio de la evolución de las poblaciones, y es probable que las parejas se conformen entre vecinos más que de forma aleatoria, la transmisión de las enfermedades, incluidas las parasitosis, tampoco ocurre de forma azarosa. Cada especie de parásito presenta sus modalidades particulares de transmisión e infestación, lo que hace que existan circunstancias más probables para su reproducción y diseminación. Podría esperarse que ciertos parásitos, que cumplieran con determinados requisitos ecológicos y etológicos, tiendan a reproducirse dentro de un mismo grupo generación tras generación. Estos son los parásitos que serían susceptibles de ser usados como marcadores biológicos para poblaciones humanas.

Probablemente no existe un parásito ideal para establecer una relación entre su filogenia molecular y la historia natural de su huésped, pero las características que debería tener para acercarse a serlo son las siguientes (Figura 1):

1. **Exclusividad respecto al huésped humano.** Esta es una característica muy relevante, que el parásito sea específico del ser humano e incapaz de parasitar a

otros organismos. En términos demográficos, su sola presencia en una zona del planeta nos entrega una información importantísima, referente a la presencia del hombre en un lugar, lo que no siempre es evidente. Por ejemplo, encontrar evidencias de miles de años de un parásito exclusivamente humano en América, nos entrega una fecha y un lugar en que el ser humano necesariamente estuvo. Un parásito que transita entre múltiples huéspedes intermediarios implica un grado de movilidad inabarcable, resultando en una delimitación geográfica indeterminable.

2. **Transmisión vertical.** Este tipo de transmisión es indicativo de la formulación de una relación tan estrecha entre huésped y parásito que en la práctica el genoma del último es transmitido de forma muy similar a la del genoma nuclear del huésped, de progenitores a hijos. Esta es la forma de transmisión característica de algunos virus y bacterias. Una consecuencia de esto es que los parásitos y el huésped se verán, en general, afectados por las mismas fuerzas evolutivas.
3. **Poca tolerancia al medio exterior.** Mientras menor sea la tolerancia al medio, menores serán las posibilidades del parásito de “perder el bote”, es decir, de que entre cada generación parasitaria el huésped logre librarse de la infestación, y más probable será que una misma metapoblación se mantenga dentro de una misma población de huéspedes.
4. **Crónico.** La facultad de un parásito de no producir o evitar una respuesta inmune aguda en su huésped puede ser un factor decisivo para la perpetuación y reproducción de su infrapoblación, y en consecuencia de la metapoblación, dentro de un grupo humano, ya que la muerte prematura de los huéspedes no contribuye necesariamente a la aptitud del parásito. Podemos razonar que un parásito que establece una estrecha relación coevolutiva con su huésped se beneficia del incremento en la aptitud de éste, ya que eso repercutiría en su propia aptitud.

5. **Deja material biológico a su paso.** Este es un hecho fundamental para la investigación paleoparasitológica y paleogenética. Mientras mayor sea el volumen de remanentes orgánicos que un parásito provea a los investigadores en los sitios arqueológicos, más susceptible será dicho organismo de ser sometido a las técnicas de la paleogenética. Hay que tener en mente que se trata de DNA deteriorado, fragmentario, y que atendiendo a eso, es difícil de amplificar, sobre todo pequeñas cantidades.

La anterior categorización de cualidades se plantea a partir de cada uno de los problemas que es posible esperar de los parásitos como marcadores biológicos cuando se los compara con los marcadores tradicionales. Tal vez uno de los aspectos más difíciles de enfrentar sea el cambio o salto de huésped, lo que en general se entiende como saltos entre linajes. Para resolver esto, buscaremos aquellos parásitos que sean más comprobadamente fieles a su huésped humano. Por otro lado, un parásito al que le resultara fácil transitar o saltar entre diferentes poblaciones de un mismo linaje huésped, tampoco nos prestaría gran utilidad como marcador. Para resolver esto, es importante buscar a los parásitos que necesiten de vinculaciones más estrechas para moverse y reproducirse entre sus huéspedes. Esto se traduce en una escasa tolerancia al medio externo y ojala en un tipo de transmisión de carácter vertical. Un parásito que cumpla con estos requisitos nos puede aportar datos tan interesantes como probables procesos de contactos prolongados entre poblaciones humanas. Un ejemplo de este enfoque es el ya citado estudio de Reed et al. (2004), que informaría del contacto directo entre formas arcaicas y modernas de Homo.

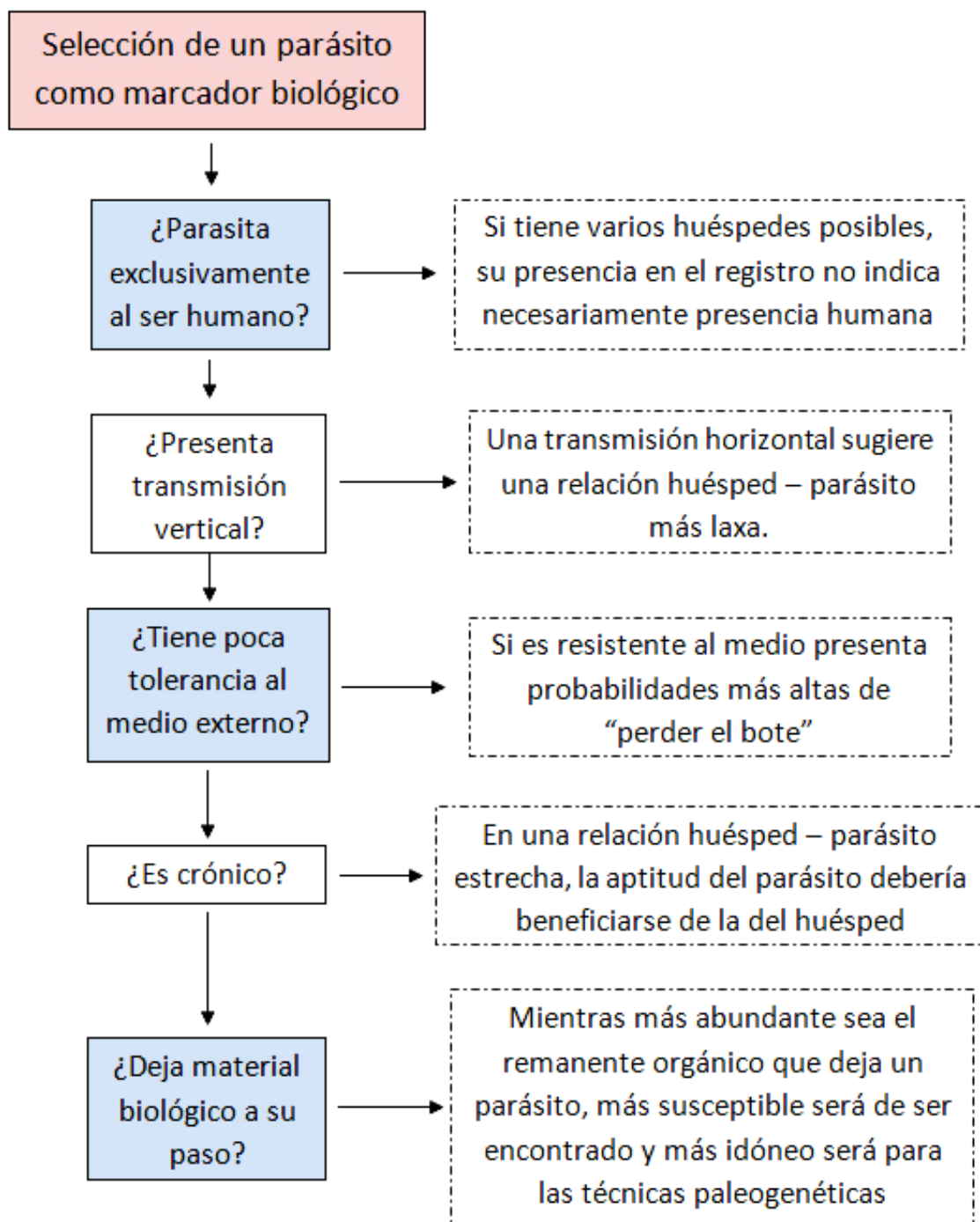


Figura 1. Diagrama de flujo que muestra las características de un endoparásito para su uso como marcador biológico.

Parásitos dependientes de factores medioambientales precisos para su supervivencia son valiosos en tanto que dicha especificidad puede aportar datos respecto a sus cursos históricos necesarios y prohibitivos. Sumadas estas características a los demás factores, con estos datos podemos hacer inferencias sobre sus huéspedes. Por ejemplo, podríamos localizar posibles vías o momentos por las que un grupo humano ingresó a una región debido a que portaban algún parásito exclusivamente humano que sólo puede subsistir bajo determinadas circunstancias climáticas.

Tener en cuenta estos factores nos permitirá seleccionar el tipo de parásitos sobre los que enfocar un estudio particular. Pero aun queda sin resolver a qué gen o genes deberíamos apuntar, es decir, la reconstrucción filogenética de qué gen o de qué tipo de genes nos resultará útil. ¿Cómo determinar los genes que serían más informativos de la historia de un linaje de helmintos?

Según Kimura y Ohta (1971) la variabilidad genética dentro de una población dada es una función de la tasa de mutación, el flujo génico (si es aplicable) y el tamaño de la población (Avice, 2003). Estos son tres factores a lo que hay que prestar atención cuando se busca un marcador molecular para resolver un problema relativo a la evolución de poblaciones naturales. Como antropólogos físicos, nuestras indagaciones apuntarán en general a escalas de tiempo relativamente cortas. Por esto requeriremos “incrementar” la variabilidad genética por unidad de tiempo, buscando una mayor definición de las diferencias que permiten construir árboles filogenéticos.

Para realizar cladogenias de organismos distantes se utilizan moléculas de evolución lenta, como el DNA que codifica para RNA ribosomal, de manera que las semejanzas entre los miembros más próximos del grupo sean reconocibles. Se han usado regiones altamente conservadas para identificar un parásito o un grupo relacionado de parásitos en una muestra (eg. Iñiguez et al., 2006). Pero para la reconstrucción de un árbol filogenético, evidentemente estas regiones conservadoras no nos resultarán informativos

a escalas de tiempo pequeñas, que son las que nos interesa indagar mediante el uso de parásitos humanos.

Para distinguir dentro de un grupo de organismos estrechamente relacionados, como para construir árboles genealógicos dentro de una misma especie, se necesita una molécula que evolucione rápidamente, que varíe suficientemente dentro del grupo. Una molécula que cumple con esto es, por ejemplo, el DNA mitocondrial. Así debemos fijar la mirada en las regiones más variables del DNA de los parásitos que elegiremos, para poder producir árboles más precisos.

La alternativa más obvia es enfocarse en alguna región hipervariable dentro del DNA mitocondrial de los parásitos, debido principalmente al número de copias con las que podemos contar, lo que simplifica la tarea, sobre todo cuando tratamos como DNA antiguo. El DNA mitocondrial humano es más variable que el nuclear, pero cabría preguntarse si esto se cumple en diferentes parásitos.

Que uno o varios genes hipervariable nos permitan reconstruir un árbol filogenético de un parásito y establecer relaciones entre metapoblaciones es una hipótesis bastante sustentada en la práctica (Avice, 2004). Pero lo que nos interesa aquí es que esto nos permita establecer relaciones entre las poblaciones de sus huéspedes, y este punto es mucho más conflictivo. En la práctica, algunos investigadores, como Wirth y cols. (2004) han logrado establecer relaciones genealógicas entre poblaciones humanas infiriéndolas de los datos moleculares aportados por la variabilidad de sus respectivas metapoblaciones de patógenos.

Un atractivo adicional de los parásitos para los estudios de historia natural es que frecuentemente una especie o una población cualquiera de una especie, se ve afectada por varias especies y varios linajes de parásitos. La presencia de esta multiplicidad de linajes abre la posibilidad al análisis comparativo entre linajes de parásitos del mismo

huésped o de la misma población. Esto podría permitir descartar o dar mayor soporte a inferencias realizadas a partir del estudio de un sólo parásito. Topologías concordantes entre parásitos de una población resultarían en un argumento más potente que las topologías concordantes entre genes humanos para la reconstrucción de la historia natural de un grupo dado.

Una paleogenética de poblaciones que siga estas directrices puede procurarnos información que ha desaparecido debido al intenso flujo de patógenos y de sus genes que hoy en día nubla el panorama de las poblaciones de parásitos en el mundo. Actualmente sería difícil discernir si un parásito que infecta a la población de Santiago es de una cepa que lleva miles de años en la región, si llegó con los españoles, si ha sido traída recientemente por inmigrantes o turistas o si se trata de una mezcla autóctona de linajes independientes, lo cual obscurece los esfuerzos por emplear a los parásitos como marcadores biológicos. Una población precolombina, en cambio, puede considerarse como una población aislada. Conociendo la genética de sus parásitos y la de poblaciones antiguas o actuales del mismo parásito en otras partes de América y el mundo, podríamos indagar, por ejemplo, respecto a la procedencia de las poblaciones humanas que trajeron dichos parásitos a América.

Sin embargo, en términos del estudio paleogenético, la mayoría de los parásitos, por no decir todos, suponen una dificultad enorme, ya que más allá de lo fragmentario que es el DNA antiguo, cuando se trata de agentes patógenos microscópicos, el material es con frecuencia o inexistente o tremendamente escaso en los contextos arqueológicos. Este es el principal motivo por el cual la presente aproximación se inclinó por orientarse hacia los parásitos helmintos intestinales. La enorme prevalencia de éstos en las poblaciones del mundo y la ingente cantidad de huevos que estos metazoos producen durante sus vidas y que son expulsadas a través de las heces por sus huéspedes, han producido que una gran cantidad de material orgánico parasitario se conserve en sitios arqueológicos, en sedimentos de letrinas y en el contenido intestinal de momias. Chile es un país donde

florecieron sociedades cuyos centros urbanos se ubican en regiones idóneas para la conservación de esta clase de material, siendo hasta la fecha infrutilizado por la arqueología y antropología física nacional.

3.3. HELMINTOS E HISTORIA NATURAL HUMANA

Las parasitosis humanas provocadas por los organismos que actualmente denominamos helmintos fueron reconocidas desde la antigüedad, ya que muchas de estas especies son macroscópicas, pudiendo detectarse a simple vista. Además, congéneres de los helmintos propiamente humanos pueden encontrarse como parásitos de muchos otros animales, así como en vegetales y también como organismos de vida libre. Se han encontrado referencias a las afecciones producidas por estos organismos en autores tan tempranos como Hipócrates, Aristóteles o Plinio (Botero y Restrepo, 2003). Esta larga historia médica, esta temprana conceptualización de estos organismos como agentes patógenos, cuyas descripciones se han hallado en múltiples fuentes, les confiere una ventaja en comparación con los microorganismos, conocidos y estudiados sólo desde el siglo XIX, cuando nos adentramos en la comprensión de las relaciones parasitarias humanas del pasado, ya que se trata de un caso único en el que autores de la antigüedad no sólo nos dan una descripción de los síntomas y de las causas probables de una enfermedad, sino que indican en detalle el agente causal de ella, haciendo posible la convergencia entre paleopatología e historiografía.

Pero los helmintos ofrecen otras ventajas a esta clase de investigaciones convergentes sobre la historia y la historia natural humana, sobre todo bajo el lente de la antropología física y la arqueología. Los helmintos, como ya se ha señalado, son un material orgánico común en los contextos arqueológicos chilenos. Se han encontrado abundantes evidencias de sus huevos en coprolitos y en sedimentos de letrinas, así como también

como parte del contenido intestinal de momias. Existen registros, aunque no en Chile, del hallazgo de helmintos adultos adosados a las paredes intestinales de momias (Allison y Gerszten, 1977). Las condiciones de baja humedad y desecación, como las que es posible encontrar en el norte de Chile, así como las de temperaturas extremadamente bajas, como las que ofrecen los sitios de altura en la cordillera de los andes, favorecen la conservación de este tipo de material.

En parasitología de helmintos, es común el uso de análisis de los huevos mediante microscopía para realizar la identificación de la especie en casos determinados. Este mismo tipo de análisis es susceptible de ser realizado en muestras antiguas, y ha sido ejecutado en varias oportunidades (eg. Han et al., 2003; Matsui et al., 2003; Bouchet et al., 2003; Chaves de Rocha et al., 2006), aunque es preciso atenerse a ciertos criterios para evitar aspectos confusos que las muestras arqueológicas pueden presentar (Reinhard y Urban, 2003). Una ventaja que tienen los huevos de helmintos para el estudio paleogenético, que se suma a la cantidad de material con la que es posible trabajar, es la resistente envoltura que protege el material hereditario de las inclemencias de los medios interno (huésped) y externo, lo que podría dar mejores garantías de la conservación en el tiempo de la molécula de DNA. En el campo de la paleoparasitología de helmintos, la conservación de este material hereditario ha permitido subsanar dificultades en la identificación del parásito encontrado (Araújo et al., 1998). Las metodologías moleculares han demostrado su especificidad y sensibilidad en organismos modernos, lo cual ha sustentado el empleo de estas técnicas en la identificación paleoparasitológica de especies de diversos linajes de parásitos humanos y animales cuando no es posible su diagnóstico a través del examen morfológico micro y macroscópico (Bouchet et al., 2003). Así, esta clase de análisis posibilitaría identificar la variedad de helminto al que pertenece un huevo cuando su morfología no es distintiva (Machado et al., 2003).

A continuación abordaremos de manera general las características biológicas y ecológicas de los endoparásitos helmintos en el contexto de sus relaciones con las poblaciones humanas, para entender los aspectos que los hacen idóneos para cierto tipo de indagaciones que, bajo un enfoque bioantropológico, se verían beneficiadas por una aproximación paleoparasitológica y paleogenética.

3.3.1. Generalidades sobre los helmintos intestinales

Helmintos (en algunos casos, vermes) es el nombre con que se designa a las criaturas que comúnmente llamamos gusanos, organismos metazoos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se encuentran agrupados en tres filos principales (Nemátodos, Platyhelminths y Acantocéfalos). Existen especies de vida libre, mientras otras se han adaptado a llevar una vida parasitaria en vegetales y animales. Entre éstos, son muchos los géneros que tienen como huésped al ser humano. La prevalencia actual de los helmintos que parasitan en los seres humanos es muy elevada y de amplia distribución, teniendo grandes efectos en los grupos humanos. Se estima que un tercio de la población mundial alberga una infección de helmintos intestinales (Caballero, 1998), fenómeno que probablemente fue similar, si es que no más acusado en determinados contextos, en el pasado. Muchos helmintos han sido identificados en contextos arqueológicos a través de sus huevos y también, aunque en raras ocasiones, de sus larvas (Horne, 1985). No hay razones para presumir que las infecciones por parásitos intestinales tuvieran características ostensiblemente diferentes a las actuales en los grupos humanos del pasado.

Los diferentes filos que comprenden el grupo de los helmintos, se distinguen morfológica y fisiológicamente. Los nematodos son gusanos de cuerpo cilíndrico, cavidad corporal y tubo digestivo completo. Los platyhelminths o plathelminths son aplanados, carecen de cavidad y presentan un aparato digestivo muy rudimentario. Éstos

se clasifican en céstodos, gusanos de cuerpo segmentado como las tenias, y tremátodos, gusanos no segmentados (Botero y Restrepo, 2003). Los acantocéfalos poseen un cuerpo de tamaño milimétrico y carecen de aparato digestivo, absorbiendo los nutrientes del huésped a través de las paredes del cuerpo. Todos los helmintos endoparásitos presentan un sistema reproductor muy desarrollado, muchos son hermafroditas y algunos son capaces de producir hasta 200.000 huevos cada día. Adaptados a la vida parasitaria, frecuentemente presentan estructuras morfológicas distintivas, como órganos de fijación (ganchos o ventosas) o cutículas resistentes a los jugos digestivos del huésped. Muchas formas larvarias de helmintos desarrollan glándulas secretoras de sustancias líticas que facilitan la penetración en los tejidos. En general, no hay un aparato locomotor propiamente dicho en estas especies, exceptuando algunas formas larvarias que han desarrollado diferentes soluciones. Los helmintos carecen de aparato respiratorio, siendo la mayoría anareobios facultativos (Botero y Restrepo, 2003).

El ciclo de vida de un parásito es todo el proceso para llegar al huésped, desarrollarse y producir formas infectantes que perpetúen su linaje. Muchos helmintos tienen complejos ciclos de vida, que los hace transitar por varios huéspedes y pasar incluso por etapas de vida libre. Estos ciclos requieren la expulsión hacia el exterior del huésped de huevos o larvas, que en las circunstancias apropiadas de temperatura y humedad pueden llegar a ser infectantes. En algunos casos pueden comprender reservorios animales o la presencia de vectores. Los geohelmintos son aquellos helmintos cuyo desarrollo los obliga al tránsito entre sus huéspedes a través de una etapa de vida en el suelo.

Las infecciones por helmintos difieren en un importante número de mecanismo respecto a la mayoría de las demás enfermedades infecciosas (Caballero, 1998):

- a) Los helmintos no suelen multiplicarse en el hospedador humano, requieren el paso a través de un vector u otro hospedador. Sin embargo, hay excepciones a esta característica.

- b) La infección por helmintos puede persistir durante muchos años.
- c) Los efectos clínicos de la infección no están relaciones necesariamente con la presencia u ausencia de infección.
- d) La infección no está uniformemente distribuida en una población: la intensidad y la prevalencia varían en función de la edad. La intensidad máxima se alcanza en la niñez, la adolescencia y en los grupos jóvenes adultos (Ocampo-Gómez, 1992).
- e) La adquisición de inmunidad por efecto de la exposición a la infección es un fenómeno gradual y acumulativo. Un requisito común a todas las infecciones parasitarias que progresan consiste en que los parásitos puedan evadir los efectos totales de las respuestas inmunes del hospedador y sobrevivir a éstas durante largos periodos (Caballero, 1998), es decir, las infecciones parasitarias, particularmente en el caso de los helmintos, son en esencia crónicas, lo que no impide que puedan desarrollarse en muchos casos de forma aguda.

La distribución de los parásitos helmintos en los individuos de una comunidad es invariablemente agregada, esto es, una minoría de los individuos presentan las cargas parasitarias más altas y la mayoría presentan cargas parasitarias ligeras (Ocampo-Gómez, 1992). La patología producida por infecciones de helmintos es generalmente compleja, con componentes derivados de las lesiones directas y cambios ocasionados por el parásito, y de la respuesta inmune a la infección.

Se ha propuesto que las parasitosis intestinales serían enfermedades características de los grupos agricultores. Los cazadores son menos proclives a esta clase de infecciones (Araujo y Ferreira, 2000), aunque para algunos autores (Salzano, 1988), sería aun incierto que los cazadores recolectores con agricultura rudimentaria estén o hayan estado menos infestados por helmintos intestinales que los grupos agricultores, aunque podemos suponer con mayor grado de certeza que los primeros sufrieron de menores cargas.

Por otra parte, varios factores aparejados con la agricultura incrementan el riesgo de contraer enfermedades endoparasitarias, especialmente en contextos de la antigüedad. Mientras los cazadores - recolectores disfrutaban de una dieta variada, los primeros agricultores obtenían la mayor parte de sus nutrientes de unos pocos cultivos. Debido a esta dependencia a un limitado número de alimentos los agricultores se arriesgan a sufrir hambrunas si uno de los cultivos falla, pero además de forma permanente se hallan sumidos en una nutrición deficiente, y los grupos con mayor riesgo a contraer infecciones de parásitos intestinales son aquellos con niveles de hierro deteriorado o con anemia por deficiencia de hierro (Crompton, 2000). La severidad de una enfermedad enteroparasitaria, además, depende no sólo de la intensidad de la infección y su localización en el tracto gastrointestinal, si no también del estado nutricional del huésped, de su edad, su salud general, sus reservas de hierro y la experiencia con infecciones pasadas (Stephenson et al., 2000). Por otra parte, el mero hecho de poseer una economía agrícola obliga a la gente a aglomerarse en comunidades atestadas, muchas de las cuales tienen intercambios con otras sociedades igual de atestadas, permitiendo la dispersión de los parásitos y las enfermedades infecciosas. Las epidemias no pueden mantenerse cuando las poblaciones están repartidas en pequeñas bandas que permanecen en general separadas, como ocurre en las sociedades de cazadores – recolectores (Goldsmid y Leggat, 2005). Además, la asociación estrecha con animales domesticados que se produjo a medida que se establecieron las sociedades agrícolas, permitió el incremento de las infecciones zoonóticas. Adicionalmente, la tala de grandes áreas del bosque natural para la expansión de las actividades agrícolas expuso y expone (e.g. Lilley, 1997) al ser humano a los peligros de cambios climáticos y la posibilidad de que de ello resulten transformaciones en los rangos geográficos de determinadas infecciones. Este proceso de dispersión de los seres humanos sobre áreas previamente remotas e inhabitadas también hizo cambiar su relación con otros animales y lo colocó en contacto próximo con varias especies salvajes dando pie al surgimiento de nuevas enfermedades zoonóticas. El desarrollo de fuentes de conservación del agua y la

irrigación de áreas previamente secas pudo también proveer los elementos indispensables para la dispersión de algunas enfermedades, particularmente algunas infestaciones transmitidas por vectores artrópodos y ciertas geohelmintiasis. Esto último se ha podido ver ilustrado con la schistomiasis en Egipto donde los estudios paleopatológicos han mostrado claramente que ha sido un problema agro-médico por más de 5000 años (Goldsmid y Leggat, 2005). El uso de heces humanas como fertilizante para las plantas comestibles también ha sido discutido como una fuente de infecciones gastrointestinales parasitarias en el ser humano, pero el uso de materias fecales animales también puede ser un curso de transmisión zoonótica.

En Sudamérica andina, los estudios de momias y coprolitos han demostrado que algunas de las parasitosis que antes se consideraban introducciones europeas no sólo existieron sino que plagaron a las poblaciones precolombinas (Verano y Lombarda, 1999). Aunque la mayor parte de las evidencias de helmintos provienen de poblaciones agrícolas sedentarias relativamente recientes, algunos coprolitos de la costa central del Perú muestran la presencia de *Ascaris* en estratos culturales desde aproximadamente 2.800 A.C. y de *Enterobius* desde 2300 A.C. (*Ibid*) mientras que las evidencias de *Diphyllobothrium* se remontan hasta hace más de 4000 años en la cultura Chinchorro (Reinhard y Urban, 2003), por mencionar sólo algunos ejemplos de poblaciones americanas preagrícolas que sufrieron de estas infecciones.

3.3.2. Helmintos como marcadores biológicos

Como se ha indicado previamente, una ventaja que presenta la investigación paleopatológica de enfermedades infecciosas provocadas por parásitos helmintos es que estos, a diferencia de las bacterias o los virus, producen huevos que son relativamente fáciles de detectar bajo el microscopio y que pueden confirmar la presencia de una

enfermedad infecciosa, incluso permitir el diagnóstico preciso de la enfermedad, aun en el caso de que los restos del huésped estén mal preservados o ausentes

Las condiciones de vida de los endoparásitos han incidido dramática y patentemente en la evolución de sus aparatos reproductores, que en todos los helmintos intestinales ocupa la mayor parte del cuerpo (Botero y Restrepo, 2003), y en las condiciones de su reproducción, caracterizada por la producción de una enorme cantidad de huevos. Por ejemplo, *Necator americanus* es capaz de producir 10.000 huevos diarios (Botero y Restrepo, 2003), mientras que *Ascaris lumbricoides* puede expulsar hasta 200.000 cada día (O’Lorcain y Holland, 2000). Este hecho es fundamental para la paleoparasitología, ya que incrementa las posibilidades no sólo de la supervivencia del helminto (o de sus genes en la siguiente generación), si no que también aumenta la probabilidad de que los huevos sean encontrados por los investigadores. Lo mismo puede decirse de la resistente envoltura que protege y conserva a los huevos de la mayoría de estas especies, lo que puede explicar la abundancia relativa de estos en los contextos arqueológicos (Loreille et al., 2001), y cuyo papel es evidente en la supervivencia de organismos que deben atravesar un tracto digestivo resistiendo las difíciles condiciones químicas que ello implica, abandonar el cuerpo en muchos casos junto a las heces, fuente también de sustancias degradantes, y hacer frente a las condiciones externas, la luz solar, el aire y las características del suelo, antes de desarrollarse como larvas infectantes. La evidencia paleoparasitológica de los helmintos intestinales está conformada principalmente por estos huevos y en muy raras ocasiones se hallan las larvas (Bouchet et al., 2003).

Los huevos de los helmintos intestinales son empleados en clínica para hacer el diagnóstico de la parasitosis, luego de ser obtenidos mediante un examen coprológico u otro, como el test de Graham, gracias a que su análisis morfológico micro o macroscópico permite en muchos casos una determinación precisa del género y hasta la especie a la que pertenecen (Botero y Restrepo, 2003). Esta identificación ha podido realizarse incluso en huevos de miles de años encontrados en coprolitos (Horne, 1985).

Los huevos de los parásitos intestinales pueden ser detectados en coprolitos secos o mineralizados en sitios arqueológicos o paleontológicos y dentro de cuerpos momificados (e.g. Loreille et al., 2001). Las condiciones que resultan en la preservación de los parásitos varían de región en región. Ambientes de gran aridez proveen condiciones extremadamente favorables para la preservación de toda clase de materia orgánica, y es en esta clase de contextos donde se han localizado la mayoría de los hallazgos arqueoparasitológicos (Bouchet et al., 2003). Otra posibilidad de freno para el proceso de degradación de la materia orgánica indispensable para la conservación de estos restos es la refrigeración natural. Un buen ejemplo de este tipo de conservación, del que se han obtenido interesantes muestras de huevos de paleoparásitos, es la momia del cerro El Plomo. El niño del cerro El Plomo es un buen ejemplo de conservación debida a las condiciones de altura en los Andes de la zona central de Chile, y de él se han podido extraer interesantes muestras de los parásitos que infestaban a las poblaciones precolombinas o durante la conquista (Fouant et al., 1982).

Sin embargo, en algunas ocasiones, la identificación de los huevos de parásitos encontrados se vuelve dificultosa por los métodos ópticos ya que la similaridad entre los huevos de algunas especies de helmintos próximamente relacionadas hace imposible diagnosticar la infección específica (Bouchet et al., 2003). Otro problema relacionado es que no existe ningún método morfoscóptico seguro para diferenciar entre los coprolitos humanos y los de algunos animales. La identificación del origen del coprolito es fundamental para la validación de los datos, sobre todo cuando el mismo helminto o helmintos muy próximos pueden infestar al hombre y a otros animales (Horne, 1985). Cuando los coprolitos no son obtenidos directamente de cuerpos humanos momificados si no que se encuentran en sedimentos de letrinas o depósitos de esta clase, es difícil determinar con certeza cuál es su origen y es posible que ocurran diagnósticos errados al confundir las heces de animales salvajes o domésticos con heces humanas.

Si bien no existe un método diagnóstico absoluto para resolver el problema del origen zoológico de las materias fecales, se ha indicado (Gonçalvez et al., 2003) que hay algunos criterios para la diferenciación que permitirían identificar el origen humano de los coprolitos basándose en su tamaño, forma, macro y micro contenidos y por sus parásitos. Como señala Gonçalvez y colaboradores (2003), y antes que él habrían señalado Reinhart & Bryant Jr. (1982) y Fry (1985), el hallazgo de helmintos exclusivamente humanos en las muestras indicaría claramente su origen. Sin embargo, cabe acotar que a través del consumo accidental por algún animal, como el perro, de materias fecales humanas que contengan huevos de helmintos humanos, éstos podrían en algunas ocasiones, luego de atravesar indemnes el aparato digestivo del animal, salir en sus heces, produciéndose un fenómeno de falso parasitismo. El falso parasitismo de animales podría ocurrir con mayor frecuencia en aquellas poblaciones que mantienen contacto íntimo con estos, y si bien indicarían que la infección está presente en la población, existen algunos escenarios imaginables en que esto podría inducir a un diagnóstico errado, por ejemplo, un animal transportando los huevos de helmintos de una población a los depósitos asociados a otra población vecina, que puede estar libre de la infección. La única solución disponible para este tipo de problemas son las técnicas moleculares, que en la práctica han permitido dilucidar el origen de los coprolitos de donde se han obtenido los huevos de helmintos (e.g. Iñiguez et al., 2003). Ateniéndose a las medidas precautorias estandarizadas contra la contaminación con DNA moderno (Pääbo et al., 2004), esta clase de análisis, que implicaría la extracción de DNA mitocondrial de las materias fecales, se constituiría en un criterio relativamente confiable, sumado a otros, como el contexto arqueológico, para determinar el origen preciso del coprolito.

Otra posible fuente de errores a tener en cuenta relativa a esta clase de evidencias se desprende de la posibilidad señalada por Reinhard y Urban (2003). Ellos indican que los huevos de helmintos encontrados en las cavidades intestinales de momias pueden no ajustarse a las características descritas para su especie. Esto se debería a que al momento

de la muerte del huésped los huevos podrían no encontrarse completamente desarrollados. En el examen de huevos de *Diphyllobothrium* realizado por estos investigadores, extraídos de coprolitos obtenidos de las cavidades intestinales de momias Chinchorro, describen que los huevos son de tamaño inferior a lo esperado para el género, que con frecuencia estaban colapsados y que ninguno estaba embrionado, todo lo cual sugeriría que esos huevos inmaduros llegaron al tracto intestinal, para mezclarse con la comida no digerida y con algunos huevos maduros, al descomponerse el cuerpo del parásito adulto (donde estaban albergados) después de la muerte del huésped. De no tenerse en cuenta este tipo de procesos, el hallazgo de huevos poco desarrollados podría dar pie a diagnósticos errados, confundiendo las diferencias en el desarrollo con diferencias de especie.

Por otra parte, las condiciones de conservación ideales para este tipo de restos plantea un serio problema, metodológico y teórico, particularmente importante en lo que respecta a la paleoepidemiología del endoparasitismo, en tanto existe un sesgo evidente entre los parásitos que es posible recuperar y los que realmente habrían existido en determinados momentos del pasado. De los helmintos que infestaron a las poblaciones humanas, aquellos cuyo ciclo de vida estuviera adaptado a las mismas condiciones de aridez en que los coprolitos se conservan estarán mucho mejor representados que aquellos que infestaron al hombre en regiones más templadas (Horne, 1985). Siendo los climas tropicales y húmedos un ambiente muy propicio para muchas de las especies de helmintos (si es que no para la mayoría), particularmente para aquellas que se transmiten a través de suelos contaminados con materias fecales y que se adquieren por vía oral o cutánea, este sesgo aparece como crucial y de difícil resolución para la paleoparasitología.

Muchos helmintos tienen ciclos de vida muy particulares, por lo que no cualquier helminto puede parasitar a una población particular en un ambiente o momento particular y, por otra parte, el hecho de que un helminto esté infestando a una población

indica que se produjeron ciertas condiciones ecológicas y culturales que lo hicieron posible. Ésta particular interrelación de factores puede aportar evidencias respecto a movimientos poblacionales y respecto a determinados aspectos culturales. Mientras algunas parasitosis son cosmopolitas debido a que las condiciones que requieren sus ciclos de vida y formas de transmisión existen casi universalmente, otras parasitosis en cambio tienen una distribución geográfica variable debido a factores como la presencia de determinados vectores o huéspedes intermediarios exclusivos, así como también debido a condiciones climáticas y ambientales. Un ejemplo clásico de esto podría ser la tripanosomiasis africana, que solamente se presenta en África y exclusivamente en aquellas zonas donde habita el género de moscas *Glossina* (mosca Tse-tse), que requiere de cierto contexto ecológico para subsistir.

Hay helmintos parásitos que son específicos de una especie de huésped, así como hay otros que no lo son, pudiendo algunos infectar sólo a especies filogenéticamente relacionadas, una clase de relación huésped - parásito que se ha atribuido a una larga historia parasitaria que remontaría su origen a un antepasado común de las especies afectadas. Otros helmintos no tienen esta especificidad y pueden saltar entre especies filogenéticamente muy distantes. Algunos parásitos son adquiridos por cambios conductuales, sociales o biológicos que han propiciado el encuentro entre huéspedes y parásitos en sus respectivas historias evolutivas. Por ejemplo, *Diphyllobothrium* es un género de helmintos que habría sido adquirido por determinadas poblaciones precisamente por un cambio en sus costumbres alimenticias (Gonçalves et al., 2003).

Condiciones ambientales y ecológicas, fundamentalmente la presencia de suelos húmedos y con temperaturas apropiadas, son indispensables para la supervivencia de muchos geohelmintos parásitos humanos. Para algunos es esencial la cercanía con vectores y huéspedes intermediarios. Por ejemplo, la presencia de caracoles en las aguas es indispensable para que se complete el ciclo de los trematodos (Botero y Restrepo, 2003). Aspectos culturales, como el lugar en que se disponen las excretas o dónde se

defeca, los hábitos alimenticios, como el consumo de carnes crudas, o las costumbres respecto al uso de calzado, son factores de enorme importancia en la intrusión del ser humano al ciclo de algunos parásitos. Una aproximación interesante a cómo las condiciones culturales inciden fuertemente en la epidemiología de los parásitos en una población, y cómo se pueden correlacionar estos dos factores a partir del estudio paleoparasitológico es la ofrecida por Santoro et al. (2003), donde se demuestra cómo la expansión del imperio Inca sobre el valle de Lluta, al producir cambios en los patrones de asentamiento, de higiene y en las conductas relacionadas con la dieta y la subsistencia, alteró la ecología parasitaria y la epidemiología de la población que allí habitaba.

De esta forma, la sola presencia de un helminto dentro de una población humana indica que se produjeron ciertas condiciones ecológicas y sociales que lo hicieron posible.

Como sabemos, de acuerdo a la teoría de Darwin, las especies se originan sólo una vez sólo en un área geográfica (Darwin, 1996). A partir de esta hipótesis, la utilización de los parásitos como marcadores biológicos permite una nueva aproximación en lo que concierne al estudio de las migraciones humanas en la antigüedad, ya que la dispersión de los parásitos en el tiempo puede ser usada para trazar el movimiento de sus huéspedes humanos, debido a que la presencia de la misma especie de parásito exclusivamente humano en dos áreas geográficas nos hablaría necesariamente de un fenómeno de migración poblacional humana que permitió el traslado de dicho parásito originado en un área geográfica a otra diferente (Gonçalvez et al., 2003).

Con el advenimiento de la secuenciación de DNA, de la técnica de PCR y de herramientas analíticas cada vez más realistas para la construcción de filogenias y para la genética de poblaciones, la información pertinente para realizar estimaciones de genealogías y de flujo genético puede extraerse directamente de los genes de los organismos. Pero esta ruta de investigación “directa” tiene la desventaja de ser poco

aplicable a un nivel microevolutivo, ya que la baja tasa de variabilidad genética entre y a través de las poblaciones humanas, aun en espacios temporales y geográficos relativamente grandes, obscurece la capacidad de inferir procesos genéticos históricos así como demográficos dentro de escalas de tiempo reducidas. En tanto que el análisis de DNA antiguo basado en PCR ha sido empleado con éxito para detectar y amplificar DNA de parásitos del pasado, incluyendo helmintos (Loreille et al., 2001), podemos contar con dicho material en determinadas circunstancias. Adicionalmente, aunque sólo de forma experimental, se ha recuperado con éxito material genético de parásitos intestinales a partir de excrementos humanos deshidratados (Machado et al., 2003). Como ya se ha indicado, el DNA de los parásitos, incluidos los helmintos, tiene tasas de evolución molecular superiores a las que presenta el DNA de sus huéspedes, inclusive el DNA mitocondrial, respecto a loci homólogos (Whiteman y Parker, 2005, Huyse et al. 2005). Tomando en cuenta estos hechos, la paleogenética de poblaciones aplicada a los parásitos humanos puede ofrecer una vía para investigar la historia evolutiva de sus huéspedes y los procesos demográficos que estos vivieron en escalas de tiempo mucho más cortas, donde otros marcadores no ofrecen suficiente nitidez. Así, el análisis de cómo esta variación diverge entre metapoblaciones diferentes de un parásito en distintas poblaciones de sus huéspedes humanos puede revelar la historia evolutiva de los huéspedes antes de que el DNA de estos se altere por la divergencia. Esto puede aportar una herramienta útil para afrontar el problema de la caracterización de las relaciones evolutivas entre poblaciones humanas y sus patrones históricos de migración.

Así, a partir del conocimiento de los aspectos que limitan la dispersión de los parásitos helmintos, que en algunos casos son múltiples y bien conocidos, y contando con suficiente material genético antiguo más o menos bien conservado, en comparación con otras fuentes, y bien asociado al ser humano en los contextos arqueológicos, sobre todo si se trata de contenidos de la cavidad abdominal de momias, el empleo de una perspectiva paleogenética de los helmintos que siga las directrices señaladas previamente en términos de generar inferencias sobre la historia natural humana a partir

de la construcción de genealogías de linajes parasitarios, parece una alternativa razonable, siendo el paso siguiente para la implementación de dicha aproximación el determinar, mediante los criterios indicados más arriba qué helminto en particular representaría un buen marcador biológico para las poblaciones americanas y chilenas en particular.

Para conocer el material de este tipo con el que podemos contar en los contextos arqueológicos chilenos, en el capítulo quinto haremos una revisión del estado del arte del estudio paleoparasitológico en el país, buscando ser lo más exhaustivos que sea posible.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. ASPECTOS GENERALES DEL MATERIAL, EL MÉTODO Y LA ORIENTACIÓN DE LA MEMORIA

El grueso del presente trabajo se plantea como un estudio de tipo hipotético-deductivo, cimentado en el análisis más completo de la literatura paleoparasitológica y paleogenética en Chile que hasta ahora se ha realizado. Se ha efectuado un extenso acopio de toda mención a los helmintos dentro de la arqueología de la región, con que pretendemos que la bibliografía y el análisis de este estudio sirva a su vez a modo de “artículo de revisión” para futuros investigadores que se interesen en el tema.

Sobre la bibliografía y los datos obtenidos, se propone una forma particular de aproximarse al problema del poblamiento humano antiguo. En el sentido de avanzar en dicha aproximación, en una última parte de este estudio se hace uso de las herramientas bioinformáticas para dar un primer paso en el sentido de sustentar empíricamente las inferencias realizadas. Esta última sección tiene la doble función de, por un lado, presentar sintéticamente las herramientas biotecnológicas y bioinformáticas que están al alcance del antropólogo físico, y por otra parte, proponer marcadores moleculares específicos para el desarrollo de determinadas líneas de investigación que se definirán a lo largo del estudio.

Luego de la exposición de los fundamentos y los datos que permiten sustentar la hipótesis de que puede haber una congruencia topológica entre los árboles filogenéticos de huéspedes y parásitos metazoos, detallada en el marco teórico, la memoria se plantea como un proceso de dos etapas:

- I. Construcción de un cuerpo teórico y bibliográfico, compuesto por la investigación de fuentes bibliográficas y el análisis hipotético-deductivo que sustentan el desarrollo de las ideas que se proponen como ciertas y viables, abarcando los antecedentes y fundamentos que sostendrían la aplicación práctica de la perspectiva propuesta, así como la revisión de la literatura que da cuenta del estado del arte del registro paleoparasitológico en Chile, todo lo cual permitirá seleccionar a el o los parásitos adecuados al enfoque presentado. En los capítulo 4 a 7 se desarrolla esta etapa.

- II. Análisis Bioinformático, el cual se asienta en los resultados de la investigación preliminar, donde se determinaron él o los parásitos más idóneos para la ejecución de un análisis experimental; Esta parte de la memoria se plantea como una primera etapa de un posible experimento. Aquí deberemos seleccionar de forma definitiva las herramientas bioinformáticas más convenientes para nuestros fines, y mediante éstas se hará la elección de aquellas secuencias idóneas que permitan realizar diferentes preguntas filogenéticas a diferentes niveles para encarar un estudio práctico que utilice a los parásitos helmintos como marcadores de variabilidad humana. No siendo la parte fundamental de la memoria, los protocolos empleados y los resultados del análisis bioinformático se presentan como un paso en la dirección de poner en práctica las ideas fundamentales presentadas en el cuerpo teórico.

Para cumplir con los requerimientos señalados, estas etapas se circunscriben a los siguientes contenidos:

- 1) Evaluación del estado del arte del registro arqueológico de parásitos helmintos en Chile mediante el análisis bibliográfico, con especial atención sobre aquella relativa al empleo de parásitos como marcadores moleculares.

- 2) Análisis bibliográfico de fuentes parasitológicas que permita definir a cada uno de los helmintos descritos en el registro arqueológico de acuerdo a sus aspectos biológicos.
- 3) Análisis hipotético – deductivo de las relaciones entre estos parásitos y sus huéspedes humanos bajo la perspectiva de sus ciclos biológicos y atendiendo a las diferentes teorías del poblamiento americano.
- 4) Determinación, en base a los antecedentes anteriores, de aquellos parásitos que pueden servir como marcadores biológicos para investigar la historia natural humana.
- 5) Elección el parásitos más apropiados en términos de factibilidad, posibilidad, disponibilidad, información que pueden entregar e información disponible, para la realización de una investigación que siga las directrices desarrolladas en la memoria.
- 6) Definición, mediante criterios moleculares, utilizando herramientas bioinformáticas, de los genes del parásito seleccionado que sean más apropiados para establecer relaciones entre metapoblaciones, en vista de su posible empleo como marcadores moleculares que atestigüen procesos históricos humanos.
- 7) Generación, mediante las herramientas bioinformáticas disponibles, de partidores específicos para la resolución de preguntas filogenéticas a diferentes niveles.

4.2. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

El método que aplicaremos en la parte bioinformática de este trabajo es, por un lado, la comparación y alineamiento de secuencias; por otro, la generación de *primers* o partidores adecuados a determinadas hipótesis de trabajo.

La comparación de secuencias nucleotídicas es una forma de hacer una “arqueología” de las moléculas, permitiendo descubrir qué zonas de ellas han permanecido más conservadas durante miles de años entre diferentes linajes, lo que podría indicar que los genes que constituyen son fundamentales para las funciones de los organismos. Así también, la comparación de secuencias permite establecer relaciones entre las especies y los organismos que las portan, permitiendo proponer un origen común o tiempos de divergencia de acuerdo a diferentes modelos matemáticos. Las secuencias a comparar pueden ser de aminoácidos (proteínas) o de nucleótidos (DNA). En el estudio actual, las secuencias que compararemos serán nucleotídicas. La comparación de secuencias de nucleótidos es apropiada cuando (a) necesitamos comparar secuencias muy parecidas, en las que puede haber variaciones mínimas, en uno o dos nucleótidos (estudios filogenéticos, genética de poblaciones, etc), sin un necesario correlato funcional y (b) buscamos identificar genes o secuencias específicas, por ejemplo para diagnosticar la adscripción de una molécula a un linaje.

Al comparar secuencias, lo que se persigue es encontrar el alineamiento que maximice los aspectos similares de los conjuntos de bases observados. Considerando que dos secuencias dadas, además de mutaciones puntuales pueden tener deleciones e inserciones, el número de alineamientos posibles es enorme y en secuencias muy largas en alineamiento múltiple la cantidad de información que se debe manejar es imponente. De ahí que se precise el uso de programas como ClustalW (Thompson et al., 1994), que permiten encontrar rápidamente una aproximación al mejor alineamiento mediante la aplicación de un algoritmo.

El alineamiento de secuencias es un paso del proceso que nos permitirá diseñar los mejores partidores de acuerdo a la información molecular disponible. La metodología para construir “in silico” estos oligonucleótidos consiste en dos simples pasos: 1) buscar las secuencias adecuadas en los alineamientos producidos en ClustalW, según los protocolos que serán detallados en el capítulo octavo de este estudio, y 2) poner a prueba estas secuencias y comparar sus características (momento en que el uso de las

aplicaciones informáticas señaladas será de gran ayuda) para decantar los partidores más apropiados.

Por otra parte es recomendable que se realice una búsqueda en BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), con los partidores diseñados, para asegurarse de que dichas secuencias no sean complementarios a ninguna otra que pueda estar involucrada en la reacción de PCR (por ejemplo, a los vectores de clonación).

4.3. HERRAMIENTAS DE ANÁLISIS

Es fundamental para este estudio el uso de las bases de datos organizadas a través del NCBI (*National Center of Biotechnology Information*: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), desde dónde obtendremos las secuencias nucleotídicas empleadas en los pasos finales de la propuesta que se desarrollará en estas páginas.

Así mismo, en dicha sección final será de gran utilidad el empleo de diversas herramientas, *softwares* y aplicaciones bioinformáticas. Las aplicaciones de las que haremos uso en la búsqueda de marcadores moleculares dentro de los parásitos a los que delimitaremos nuestra aproximación, son:

ClustalW: Clustal es un software para el alineamiento múltiple de secuencias más ampliamente usado. Existen dos variaciones de este programa, ClustalW y ClustalX. Acepta un amplio rango de formatos de entrada de datos, incluido FASTA.

MEGA: El nombre del programa es un acrónimo que proviene de *Molecular Evolutionary Genetics Analysis*. En este caso utilizamos particularmente MEGA version 4 (Tamura, Dudley, Nei, and Kumar 2007). Este programa permite realizar análisis de secuencias, de proteínas o nucleótidos, con una perspectiva evolutiva, permitiendo hacer estimaciones filogenéticas, construir árboles, establecer distancias genéticas de acuerdo a diferentes modelos, calcular índices de disparidad, etc.

AmplifX: Es un programa que permite diseñar, gestionar y probar partidores o *primers*, realizando simulaciones de PCR e informando mediante varios parámetros de la calidad y características de los partidores usados. Utilizamos la versión 1.4.0 (<http://ifrjr.nord.univ-mrs.fr/AmplifX>).

Netprimer: Es una aplicación en líneas que posibilita poner a prueba parejas de partidores. La principal característica que posee es el análisis de la formación de estructuras secundarias en los partidores y de las posibles interacciones *primer-primer* (<http://www.premierbiosoft.com/netprimer>).

5. ESTADO DEL ARTE DEL REGISTRO PALEOPARASITOLÓGICO EN CHILE

5.1. INTRODUCCIÓN

Una definición cerrada de paleoparasitología la señala como la rama de la paleopatología que estudia los parásitos de los sitios arqueológicos o paleontológicos, y en general cuando se hace mención explícita de la paleoparasitología o arqueoparasitología se está implicando que el estudio paleopatológico referido se enfoca sobre organismos patógenos metazoos. Desde principios del siglo XX, con los estudios pioneros de Sir Marc Armand Ruffer en Egipto, quién describió huevos de *Schistosoma haematobium* en el contenido intestinal de momias (Goncalvez et al., 2002), hasta el día de hoy, el grueso de los resultados que ha aportado hasta ahora esta disciplina refieren a aspectos paleopatológicos y contextuales de las poblaciones humanas del pasado, en muchos casos no sobrepasando el estatus de estudios de casos.

Durante la década de 1960, con la implementación de nuevas técnicas de hidratación de coprolitos, la paleoparasitología recibió un nuevo impulso, al possibilitarse el uso de técnicas parasitológicas comúnmente aplicadas en laboratorios clínicos a especímenes de cientos o miles de años. Pero es en los últimos lustros donde la disciplina ha alcanzado algún grado de madurez, independizándose hasta cierto punto de la arqueología, debido a sus técnicas, metodologías y teorías. Los principales focos de desarrollo de la paleoparasitología en lo que respecta a organismos metazoos han sido Estados Unidos y Brasil, a los que se suman algunos grupos europeos. Los aportes de estos investigadores enfatizan la construcción de teorías cuyo punto de partida son las evidencias paleoparasitológicas, dándole de esa forma un lugar central al fenómeno del parasitismo para reconstruir desde ahí la historia del ser humano, es decir, no limitándose a ser solo

una herramienta auxiliar (y muy poco usada) en arqueología. Se puede decir que el enfoque de los investigadores brasileños está más centrado en conocer la antigüedad de las relaciones parasitarias, su evolución y la dispersión del parasitismo en el pasado, constituyéndose en una perspectiva que pone más énfasis en la biología del fenómeno. Por otro lado, el enfoque que los investigadores Europeos y Norteamericanos privilegian la interpretación a partir de los datos paleoparasitológicos de aspectos de la evolución cultural humana, como los cambios en la dieta, en el higiene, en los patrones de salud, en la ecología humana y la complejidad cultural, es decir, lo que Karl Reinhard denomina arqueoparasitología es una perspectiva de estudio que pone el énfasis en los aspectos socioculturales del fenómeno parasitario.

Se ha demostrado que la evidencia de los parásitos en contextos arqueológicos permite hacer inferencias importantes, que incluyen la refutación de rutas migratorias humanas prehistóricas, contribuyendo al conocimiento del poblamiento humano de los continentes (Bouchet et al., 2003). Por esto es útil y necesario que su análisis sea tomado en cuenta en el momento de abordar un nuevo sitio arqueológico. Sin embargo, aun es poco común que en la práctica arqueológica y bioantropológica se considere la recuperación de las evidencias parasitarias en terreno (coprolitos, enterolitos y sedimentos de la zona pélvica, básicamente) para la realización de abordajes futuros, como sí se conservan, en un afán propio de la arqueología actual, otro tipo de materiales, en el caso de que más adelante pueda realizarse una indagación sobre éstos (por ejemplo, es común la recolección y conservación de fragmentos de carbón aunque la investigación no contemple dataciones radiocarbónicas). Es aun más extraño que dicho abordaje paleoparasitológico esté contenido en la investigación misma o sea parte integral de ella. Como veremos, en Chile, así como en otros países americanos, aunque son escasos, existen algunos estudios arqueológicos y bioantropológicos que han comenzado a recolectar e incluso hacer uso de la información proveniente de la paleoparasitología para realizar diferentes clases de inferencias en el ámbito de la historia natural y cultural humana.

En la presente sección, mediante una revisión de la bibliografía existente daremos cuenta de la variedad de endoparásitos helmintos que hasta el momento sabemos que afectaron a las poblaciones precolombinas. Esta revisión tiene dos objetivos. En primer lugar, pretende resumir los parásitos helmintos humanos de cuyo registro arqueológico tenemos conocimiento, para en una etapa posterior poder seleccionar dentro de ellos aquellos cuyas características resultan más idóneas para realizar una aproximación paleogenética informativa en términos bioantropológicos. En segundo lugar, la presente revisión espera constituirse en un aporte en tanto condensa las investigaciones que han entregado datos de tipo paleoparasitológico dentro de la arqueología chilena. Este tipo de revisiones, al volver disponibles los datos existentes en un área dada, permiten a los investigadores interesados en incluir nuevas perspectivas dentro de sus investigaciones, por un lado, informarse sucintamente de los desarrollos en dichas líneas de investigación, luego, se constituyen en un punto de partida para la generación de nuevos estudios, y por último, posibilitan comprender de forma global por qué ciertos datos y ciertas aproximaciones deben ser tenidas en cuenta a la hora de afrontar el estudio de uno o de una serie de sitios arqueológicos.

5.2. CRITERIOS EMPLEADOS EN ESTA REVISIÓN

Siendo nuestro objetivo determinar sobre qué parásitos helmintos sería pertinente una aproximación paleoparasitológica enmarcada en los aspectos propuestos en el marco teórico, a saber, conducentes a producir inferencias acerca de la historia natural del ser humano, particularmente en el contexto del poblamiento temprano de América, una buena primera aproximación a este campo de estudio consistiría en establecer qué helmintos eran endémicos de América al momento del arribo europeo hacia fines del siglo XV, para desde ahí aplicar los criterios que permitan establecer cuáles son los más

idóneos, en términos de una aproximación paleogenética, entre aquellos que efectivamente sabemos que constituyen parte del registro real del área.

Abarcar todos los helmintos conocidos o todos los que afectan actualmente a las poblaciones en América sería una tarea que escaparía de los objetivos propuestos en esta investigación. Basta recordar que los helmintos están entre los animales más numerosos sobre la faz de la tierra, sólo superados por los artrópodos y los protozoos. La abundancia del phylum *Nematoda* es tal que se estima que una hectárea de tierra puede contener aproximadamente 6000 millones de individuos de diversas especies de nemátodos (Nason, 1973), y existen muchas especies que parasitan al ser humano o que pueden parasitarlo. Por esto, hemos optado por acotar el número de parásitos a considerar a sólo aquellos endoparásitos helmintos de los cuales existe registro arqueológico con fechas precolombinas en Chile. Este es un criterio lógico ya que permite abocarnos a parásitos que comprobadamente tengan posibilidades de aportar antecedentes (debido a que están representados y no son meros supuestos) acerca del poblamiento americano previo al contacto europeo. Es sin duda un criterio arbitrario, sin embargo, ya que el escaso número de casos reportados de parásitos intestinales en sitios arqueológicos precolombinos chilenos (hecho que en importante medida se puede achacar a que no han sido buscados) y el sesgo respecto a las particulares condiciones de conservación de los coprolitos (condiciones de sequedad extrema o de temperaturas extremadamente bajas) hacen que resulte evidente que los parásitos sobre los que nos abocaremos no son ni remotamente todos los parásitos helmintos que infestaron a las poblaciones precolombinas en Chile, menos aun en América. Por otra parte, hablar de los parásitos precolombinos en Chile es acotarnos a una categoría no biológica, ni siquiera cultural, sino que contingente y política, sobre todo en la perspectiva de utilizar estos resultados para establecer eventos demográficos y movimientos poblacionales del pasado, ya que obviamente ni los parásitos ni las poblaciones precolombinas se regían por las actuales fronteras políticas. A pesar de todo esto, el criterio escogido parece ser el único que permite acotar de forma lógica la enorme área sobre la cual es posible

adentrarse en este tema para ajustarla a la magnitud que es posible abarcar con un estudio como el aquí propuesto, además de entregar, por otra parte, un marco temporal lo suficientemente amplio para estudiar eventualmente la evolución genética de las poblaciones de parásitos con una resolución mínimamente buena. No obstante, procuraremos incluir dentro de la revisión aquellas evidencias, en caso de que existieran, de hallazgos provenientes de sitios inmediatamente contiguos al territorio nacional, donde sabemos existió en el pasado una continuidad étnica que vuelve demasiado ilusoria la separación política actual para que sea determinante en este estudio. Con estas inclusiones ampliaremos el espectro de la investigación de forma lógica, ya que el escaso número de estudios existentes enfocados al territorio chileno resultan en un sesgo que no parece ser representativo del volumen y la variedad en la fauna parasitaria, particularmente helmíntica, que debió observarse en el pasado.

5.3. VALIDEZ Y VALOR DE LOS DIAGNÓSTICOS PALEOPARASITOLÓGICOS

La siguiente revisión remite a diagnósticos parasitológicos realizados sobre material antiguo. El principal problema metodológico que hay tener en cuenta en paleoparasitología refiere a la confiabilidad del diagnóstico, por lo tanto es importante, al momento de evaluar los estudios ejecutados en el área, tener en cuenta los aspectos en que se fundamentan éstos. Un buen diagnóstico paleoparasitológico debe superar los siguientes tres criterios (Araújo y Ferreira, 1995):

- a) Identificación del origen zoológico del material, sea humano o animal. Cuando se trata de enterolitos y huevos extraídos del contenido intestinal de momias, esta identificación es sencilla. En el material hallado en el exterior, es siempre un tema complejo. Existen protocolos que se han ensayado para la determinación de

la naturaleza de los coprolitos (Chame, 2003). Cuando se trata de sedimentos, sin embargo, esta identificación resulta más difícil de hacer. Para realizar aproximaciones confiables es importante contar con controles que permitan determinar si los restos depositados en los sedimentos de la zona pélvica de un esqueleto provienen del contenido intestinal de este o son producto de la contaminación del área por otras fuentes, como puede ser la utilización del abdomen como guarida para roedores durante la primera fase de descomposición del cadáver (e.g. Fugassa y Barberena, 2006) o el transporte de restos de parásitos de un estrato superficial a otro más profundo debido a, por ejemplo, el flujo de agua.

- b) Consideración de las posibles alteraciones morfológicas de los huevos, quistes o larvas de parásitos, resultantes de la deshidratación u otros factores mecánicos, químicos o biológicos. Esto es fundamental en vista de los análisis mediante microscopía. En este sentido, podemos mencionar por ejemplo un trabajo de Reinhard y Urban (2003), donde sugieren que los huevos de helmintos encontrados en las cavidades intestinales de momias pueden no ajustarse a las características descritas para su especie, ya que al momento de la muerte del huésped los huevos podrían no encontrarse completamente desarrollados. Esto podría conducir a diagnósticos falsos negativos o a confusiones entre especies.
- c) Empleo de técnicas que permitan una identificación específica más precisa. Si bien en la mayoría de los casos el diagnóstico morfométrico es un dato que puede ser considerado suficientemente certero para precisar el origen de los huevos analizados, existe una amplia gama de situaciones donde dicha técnica sólo debe ser apreciada como un diagnóstico preliminar. Y si bien en muchos casos bastará con ese diagnóstico para realizar inferencias válidas, en otros será preciso usar herramientas de mayor precisión, por ejemplo, la identificación molecular mediante PCR o análisis inmunológico (Araújo et al., 1998).

Es importante destacar el siguiente punto, porque nos permitirá en lo sucesivo saber descartar o apreciar muchas de las elucubraciones que la paleoparasitología podría hacer de forma equivocada: Si bien un diagnóstico paleoparasitológico positivo bien realizado es incontestable y permite generar una teoría en torno a él o ser usado como evidencias para las más diversas hipótesis, un diagnóstico paleoparasitológico negativo poco o nada dice. Es por esto que muchas teorías en el campo de la paleoparasitología y áreas afines basadas en la ausencia de determinados parásitos deben ser interpretadas con cautela. La ausencia de un parásito en el registro arqueológico de un área, incluso cuando ésta ha sido estudiada a fondo, puede deberse a una multitud de factores. Más adelante profundizaremos en este punto, que a veces es olvidado debido a lo fragmentarias o inexistentes que son otras clases de evidencias en algunas zonas. Idealmente, la ausencia de algún parásito en un determinado registro, no debería ser usado como dato para sostener ninguna hipótesis a menos que existan fuertes evidencias suplementarias que apoyen el hecho de que tal o cual parásito realmente no se encuentra o no se encontraba representado en una determinada área geográfica. Son muchos los factores que pueden influir en el hecho de no hallar un parásito dado en una zona geográfica o en un sitio arqueológico dado. Dichos factores pueden ser divididos en datos verdaderamente negativos y en falsos negativos. De los datos verdaderamente negativos que podrían apoyar la hipótesis de la ausencia de un helminto en un área o parasitando a una población en el pasado, un ejemplo podría ser la falta de algún elemento en la cadena de transmisión del parásito, tal como la inexistencia bien documentada o bien fundada de huéspedes intermediarios en la región. Otros datos de este tipo pueden estar dados por determinados hábitos alimenticios o culturales de los huéspedes humanos o condiciones geoclimáticas desfavorables al ciclo biológico del parásito. Como causas de falsos negativos podríamos mencionar la existencia de condiciones físico-químicas desfavorables para la preservación de los huevos del parásito en el suelo, contar con volúmenes de restos parasitarios por debajo de la sensibilidad de los métodos paleoparasitológicos empleados y el que las excavaciones arqueológicas hayan sido

realizadas en lugares ajenos a los contextos donde podrían hallarse los restos orgánicos de helmintos. La utilización de técnicas paleoparasitológicas más sensibles que la microscopía óptica, tales como la detección de DNA parasitario por técnicas de biología molecular, así como la detección de antígenos parasitarios específicos mediante análisis inmunológicos, harán posible la obtención de diagnósticos paleoparasitológico cada vez más precisos, reduciendo los falsos negativos.

Un aspecto que hay que tener muy en cuenta respecto a los registros arqueológicos de endoparásitos helmintos es que su prevalencia está determinada de forma importante por las características de las sociedades a las que infestan. Se ha sostenido, y parece evidente, que a medida que los habitantes de determinadas regiones han ido transformando sus conductas habitacionales pasando a modos de vida sedentarios, empleando abrigos rocosos o grutas como moradas o fabricando viviendas, la frecuencia de huevos de parásitos en coprolitos se incrementa (Goncalvez et al., 2002.). Sin embargo esto no implica necesariamente que las cargas parasitarias o la prevalencia de la infección dentro de la población haya variado ostensiblemente debido a la transformación de ciertos hábitos, ya que esta forma de vida de por si incrementa la acumulación de los coprolitos y por lo tanto la posibilidad de encontrarlos en el registro. Ahora bien, dicha acumulación, y la generación de condiciones de hacinamiento, bien pueden producir una mayor probabilidad de contraer la infestación. Así, hay una serie de factores en un sistema complejo de interrelaciones que no son simples de dilucidar a la hora de sostener o explicar la ausencia / presencia de determinada especie parasitaria. Por estos motivos, muchos datos paleoparasitológicos son, por su propia naturaleza, provisionarios. El no contar con registros de determinado número de helmintos en una zona dada, en el caso que nos compete aquí, el territorio chileno, no implica en modo alguno descartar su presencia, y de hecho en muchos casos podremos al menos suponer que alguna clase de helminto estuvo presente en determinada localidad, considerando las evidencias arqueológicas, etnográficas y ecológicas, aunque por el momento no contemos con evidencias paleoparasitológicas concluyentes. Existen ciertos parásitos

cuya ausencia en el registro se puede explicar más fácilmente por su mala conservación, lo fragmentario de las muestras y la falta de estudios paleoparasitológicos que por otros factores de orden natural. A medida que se hagan nuevos hallazgos, nuevas teorías serán formuladas y otras deberán ser descartadas. Con técnicas cada día más sensibles y con un mayor número de investigadores involucrados en estudios paleoparasitológicos, muchos nuevos hallazgos de parásitos irán siendo realizados, permitiendo progresivamente una visión más amplia y completa del fenómeno parasitario en la perspectiva de la historia natural del ser humano.

Guiados por los precedentes criterios, a continuación haremos un acopio de las diversas investigaciones arqueológicas realizadas en territorio chileno y zonas colindantes en las cuales se ha incluido algún tipo de análisis paleoparasitológico, con el fin de determinar aquellos helmintos endoparásitos humanos sobre los cuales podemos tener la certeza de su presencia en esta área geográfica en la antigüedad precolombina y conocer desde qué fechas contamos con su registro. En las secciones posteriores nos ocuparemos de la descripción de los parásitos que más probablemente infestaron a los seres humanos en este territorio desde las más remotas ocupaciones conocidas, para dar, luego de su análisis, con aquellos parásitos que sean susceptibles de informarnos de forma profunda respecto a la historia natural de sus huéspedes humanos.

5.4. REGISTRO PALEOPARASITOLÓGICO EN CHILE

La revista *Chungará*, fundada en 1972, es una de las principales publicaciones en Chile que se enfocan en dar cuenta de investigaciones en antropología y arqueología. Una búsqueda en su base de datos de *Scielo.cl* utilizando índices como “parásito”, “arqueoparasitología” o “paleoparasitología”, y sus correspondencias en inglés, arroja escasos resultados; una nueva búsqueda realizada mediante el índice “helminto” o

“helminth” no arroja resultado alguno. Búsquedas subsiguientes, empleando otros conceptos relacionados, tanto generales como específicos, no alteran mayormente la situación. Incluso teniendo en cuenta algún problema informático en la base de datos o con su motor de búsqueda (habiendo comprobado su efectividad, al menos relativa, mediante el uso de otros términos de búsqueda más convencionales), esta simple prueba nos informa de lo alejada que está la mirada de los arqueólogos y antropólogos físicos chilenos del fenómeno parasitario, sobre todo en lo referente a metazoos. Repitiendo estas búsquedas en una publicación como *Estudios Atacameños*, no obtenemos resultados alejados de este patrón. Más aun, en esta publicación no existe ninguna referencia a “parásitos”, menos aun a la “paleoparasitología”, ni tampoco a “helminto”, o al menos así lo informa el motor de búsqueda de *Scielo.cl*. La revista chilena *Magallania*, antigua serie *Ciencias Humanas de Anales del Instituto de la Patagonia*, enfocada a la difusión de investigaciones en el área de las ciencias sociales y humanas desarrolladas en la región patagónica, Tierra del Fuego, la Antártica, islas adyacentes y el océano Pacífico sur-oriental, es la primera publicación nacional donde podemos encontrar investigaciones de carácter paleoparasitológico propiamente tal. Sin embargo, tampoco hay que esperar que en las publicaciones internacionales esta situación sea diametralmente distinta. Si bien, una búsqueda enfocada sobre estos parámetros en *Pubmed* (<http://www.pubmed.com>) o utilizando motores de búsqueda especializados en publicaciones académicas como *Google Scholar* (<http://scholar.google.cl>) o *Scirus* (<http://www.scirus.com>), utilizando parámetros como “*archaeology AND helminths*” y combinaciones de términos de este tipo, nos arroja una cantidad de resultados muy superior a la de las publicaciones nacionales, siguen siendo pocas las referencias en relación al número de publicaciones que conforman dichas bases de datos, y basta una revisión superficial de los resultados obtenidos para notar inmediatamente que sólo unos pocos apuntan a lo que buscamos: estudios arqueológicos que incluyan un enfoque paleoparasitológico abocado a helmintos parasitarios o bien, estudios propiamente paleoparasitológicos. Investigaciones de estas características son escasos en todo el mundo, pero afortunadamente si en un lugar son menos raras es en América,

particularmente las que emergen de los núcleos de investigación en Brasil y Estados Unidos. La mayoría de los reportes producidos en Sudamérica de parásitos en registro arqueológicos precolombinos provienen de una de estas fuentes. El grupo de investigadores reunidos en torno al Instituto Oswaldo Cruz de Río de Janeiro, Brasil, es el que ha dado el mayor impulso a esta disciplina en Sudamérica en los últimos años, con una serie de investigaciones y publicaciones que desde la década de los 1980 han ido incrementando las perspectivas que ofrece la paleoparasitología. En Estados Unidos, mientras tanto, Karl Reinhard y otros investigadores, también han mantenido vigente esta área y han aportado desarrollos teóricos que vienen a sumarse a los producidos en Brasil. Aunque de forma minoritaria, en otras partes del mundo también se han dado desarrollos particulares en el área de la paleoparasitología o paleopatología de parásitos humanos. Tanto en Francia como en Alemania existen grupos dedicados a esta clase de estudios. Sin embargo, los estudios enfocados en enteroparásitos humanos aun son escasos, incluso dentro del seno de los laboratorios paleoparasitológicos, en relación con las investigaciones desarrolladas en torno a parásitos unicelulares y sobre todo respecto al grueso de los estudios paleopatológicos.

Si es raro que los paleopatólogos se interesen en los helmintos, si son pocas las investigaciones en paleoparasitología, tanto o más escasos serán los reportes publicados de este tipo de indagaciones. Mucho más extrañas son, por cierto, las revisiones o *reviews* que tratan de hacer acopio de estas experiencias. El compendio más completo producido hasta la fecha sobre los parásitos intestinales que han sido hallados en contextos arqueológicos en el mundo es el de Gonçalves, Araújo y Ferreira, *Human Intestinal Parasites in the Past: New Findings and a Review* (2003). Se trata de un interesante artículo en el cual, junto con revisar la literatura existente sobre el tema, se informa sucintamente de algunos hallazgos nuevos realizados mediante el estudio de especímenes provenientes de la colección del laboratorio de paleoparasitología de la *Ecola Nacional de Saúde Pública - Fundação Oswaldo Cruz*, en Río de Janeiro, Brasil. Varias de las nuevas evidencias de parásitos intestinales informadas en dicho artículo,

encontradas dentro de los restos conservados en la colección mencionada, provenientes de diferentes investigaciones arqueológicas realizadas previamente, aportan datos útiles para nuestro propósito, ya que algunos de los materiales analizados fueron obtenidos en sitios chilenos. De esa manera, el completo informe de Gonçalves y colaboradores (2003) representa una piedra angular desde dónde iniciar nuestra revisión de los helmintos que atestiguan los contextos chilenos. Una anterior revisión que también nos fue de utilidad es la de Horne (1985), que dedica su artículo en el *Journal of Archaeological Science* a compendiar las evidencias que existían hasta ese momento de parásitos en registros arqueológicos americanos anteriores al contacto europeo. La Revisión de Gonçalves et al. (2003) formó parte de un número especial de las *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* dedicado a trabajos paleoparasitológicos que fue publicada el año 2003. Dicha publicación es una fuente constante de estudios en esta área y por lo tanto constituye una fuente principal de consulta a la hora de hacer el acopio de las publicaciones donde se alojan menciones a paleoparásitos helmintos en Chile precolombino. Fuentes de consulta útiles también fueron las mencionadas revistas *Magallania* y *Chungará*, mientras que otras publicaciones internacionales, si bien han permitido contextualizar los descubrimientos provenientes de Chile, en general no aportaron con datos nuevos respecto a la paleoparasitología de la zona. En las siguientes páginas revisaremos las referencias de cada endoparásito helminto que ha sido hallado e informado formando parte de contextos arqueológicos chilenos y de territorios inmediatamente contiguos en épocas precolombinas, junto con contextualizar al parásito en lo que respecta a su registro paleoparasitológico en el mundo.

5.4.1. *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*

Estas dos especies de nemátodos de la familia *Ancylostomidae*, agrupadas en castellano bajo el nombre genérico de uncinarias o anquilostomas y en inglés llamadas *hookworms*, han sido asociados al ser humano en diferentes contextos arqueológicos de todo el

mundo. En el Viejo Mundo se cuentan con registros paleoparasitológicos de su presencia desde el 3600 AC (Dommelier–Espejo, 2001, en Gonçalves et al., 2003). Su antigüedad como problema epidemiológico en dicha área se ha podido establecer también por vía indirecta, si atendemos a aquellos autores que los identifican a través del estudio de fuentes literarias históricas, llegando así a ser asociados al ser humano en el Viejo Mundo desde hace más de 5000 años (Cox, 2002). La presencia de la anquilostomiasis en América precolombina fue un tópico de discusión hasta hace poco (Cox, 2002; Aufderheide y Rodríguez-Martín, 1997), pero actualmente los registros paleoparasitológicos de este geohelminto son mucho más numerosas en el Nuevo Mundo, existiendo múltiples evidencias tanto de *Necator* como de *Ancylostoma* en contextos arqueológicos anteriores a 1492, en Norteamérica y Sudamérica, situándose la fecha más antigua hasta ahora entregada en el sitio Pedra Furada en Brasil, con un fechado de 7230 ± 80 A.P. (Araújo et al., 1988).

En Chile, las evidencias de anquilostomas en el registro arqueológico se concentran, como todos los hallazgos arqueológicos de huevos de helmintos, en la zona desértica del norte, no existiendo rastros del parásito en ningún contexto arqueológico más meridional, ni chileno ni argentino. Se han identificado positivamente en Tiliviche (Iquique), en un estrato fechado entre 4100 y 1950 A.C. y en Toconao Oriente, en San Pedro de Atacama, con fechas de 2500 a 2100 A.P. (Gonçalves et al., 2003). Estos reportes corresponden a la indagación sobre muestras de la colección del laboratorio de paleoparasitología de la Escola Nacional de Saúde Pública – Fundação Oswaldo Cruz, no a casos reportados debidos a las pesquisas arqueológicas propias de dichos sitios. Marvin Allison reportó una clase de evidencia extraña cuando se trata de endoparásitos helmintos en contextos arqueológicos: especímenes de *Ancylostoma duodenale* adosados a las paredes intestinales de una momia andina del periodo Tiwanaku, de alrededor del 900 AC., hallazgo realizado en el sur del Perú. En Allison et al. (1974, en Rodríguez-Martín, 2000) y en Allison y Gerszten (1977), se proveen de convincentes fotografías de dichos especímenes. Sin embargo, debido a la ausencia de huevos que permitieran un diagnóstico preciso, la identificación de Allison fue cuestionada (Ayala, 1978, en

Aufderheide y Rodríguez- Martín, 1997). Sin embargo, posteriores hallazgos del parásito en Sudamérica, incluidos algunos producto de las pesquisas de Allison y colaboradores en momias peruanas y chilenas (Rodríguez-Martín, 2000), que no fueron sin embargo reportados de forma sistemática, han permitido reforzar dicho hallazgo, que en su momento correspondía a un caso aislado. Allison y colaboradores (1974) sostuvieron que esta parasitosis no habría constituido un problema de salud serio en dichas poblaciones, ya que el medio ambiente no habría permitido el desarrollo completo de su ciclo biológico. Cabe preguntarse con qué frecuencia se daban estos hallazgos dentro de las innumerables exhumaciones de estos investigadores y cuales son los criterios epidemiológicos que permiten sostener que la infección no era un problema importante de salud. Los análisis de Allison y colaboradores no pueden responder estas preguntas, a pesar del enorme número de momias que fueron exhumadas en la zona sur peruana y del norte de Chile, ya que, como señala Rodríguez-Martín (2000) dichos estudios paleoparasitológicos correspondieron a un “análisis preliminar”. Cabría así mismo preguntarse cómo pudieron encontrarse los huevos de este parásito si el ciclo completo no se cumplía en dichos contextos. Los cuerpos momificados donde se encontraron las evidencias de *Ancylostoma* ¿correspondían acaso siempre a individuos extranjeros o que habían viajado a regiones remotas donde habían contraído la parasitosis? Difícilmente. Lo más probable es que el ciclo si haya podido concretarse en los oasis que habitaban estas poblaciones precolombinas, como los comprueban los nuevos hallazgos que han sido reportados en los últimos años (Gonçalves et al., 2003).

5.4.2. *Ascaris lumbricoides*

Uno de los helmintos más frecuentes en los contextos arqueológicos del mundo y con que los paleoparasitólogos están más familiarizados es *Ascaris lumbricoides*. Sin embargo, no se han hallado evidencias de este helminto en contextos arqueológicos

chilenos. Si seguimos a Gonçalves y colaboradores, la evidencia más próxima territorialmente de *Ascaris lumbricoides* en un contexto arqueológico precolombino, provendría de un sitio en el valle de Huarmey, en Perú (Patrucco et al., 1983, en Gonçalves et al., 2003). Considerando la localización geográfica de ese contexto (la costa norte de Perú), no se puede considerar lo suficientemente cerca del territorio chileno para sugerir que dicho parásito debió afectar a las poblaciones de la zona que nos interesa. En un estudio paleoparasitológico realizado sobre los sedimentos extraídos de la cintura pélvica de un esqueleto en el sitio arqueológico “Nombre de Jesús”, en la Patagonia Austral, se encontraron estructuras fragmentarias de huevos que se asemejarían según los investigadores a *Ascaris sp.* (Fugassa et al., 2006). En ese mismo contexto de la época del contacto europeo, se identificaron huevos que probablemente corresponden a *Trichuris trichura*. La asociación de *A. lumbricoides* y *T. trichura* es muy común para el mismo periodo en Europa (Bouchet et al., 2003). Ya que los sedimentos fueron obtenidos del contenido abdominal de un esqueleto de adscripción étnica europea, en época histórica, y a que su identificación permanece como dudosa, dicho diagnóstico de *A. lumbricoides* poco o nada nos dice de la situación epidemiológica de América precolombina, menos aun de lo que podría haber ocurrido en territorio chileno. No hay registros más actualizados de *Ascaris lumbricoides* en áreas próximas, de tal manera que este helminto quedará descartado en nuestro estudio.

5.4.3. *Trichuris trichiura*

En el Viejo Mundo los indicios de *Trichuris trichiura* se remontan hasta hace más de 5500 años en el pasado, en sitios de Europa central (Gonçalves et al., 2003), pero el registro más antiguo de este helminto, conocido en inglés como whipworm, se ubica en Sudáfrica, en la cueva Kruger, Rustenburg, situado temporalmente entre hace 10.000 y 7.000 años (Evans et al., 1996, en Gonçalves et al. 2003). No existe duda de que el

hombre sufrió la infestación de *Trichuris trichiura* en el Viejo Mundo mucho antes del contacto con el Nuevo Mundo, por lo que el origen americano de este Helminto, propuesto por Pizzi y Schenone (1960, en Horne 1985), queda descartado. Por otra parte, tampoco es probable que el parásito haya sido introducido a América después de la llegada de Colón, lo cual está sustentado por varios hallazgos paleopatológicos precolombinos (ver Gonçalves et al., 2003). Por lo tanto, *T. trichiura* debe haber sido introducido a América en una época anterior al contacto europeo por las poblaciones de origen asiático que colonizaron el continente.

Pizzi y Schenone, en 1954, fueron los primeros en describir evidencias de *T. trichiura* en restos arqueológicos humanos del Nuevo Mundo, registro que tiene una fecha de ca. 1500 D.C. (en Fouant et al., 1982, y Gonçalves et al., 2003). Este descubrimiento fue el que llevó a dichos investigadores a sugerir el origen americano del helminto, ya descartado. Los huevos fueron hallados en los remanentes fecales que se conservaban en el ano dilatado de una momia Inca, correspondiente a un individuo de 8-9 años, hallada en estado de congelamiento en los Andes a 5400 m. de altura, en la cúspide del cerro El Plomo en Chile central, en las proximidades de Santiago. El problema con esta momia es que su fechado no es preciso, lo que se presta para múltiples interpretaciones. En Gonçalves et al. (2003) se asume que es precolombina, mientras que Fouant et al. (1982) consideran que vivió durante la conquista española. En Fouant et al. (1982) se reporta además el hallazgo de *Trichuris trichiura* en otras dos momias, sin embargo ninguna presentaba fecha anterior a la invasión española, lo que hace sugerir a esos investigadores que el helminto habría sido acarreado por los europeos, a lo que suman la evidencia de El Plomo que, como se señaló, interpretan como una infección de *T. trichiura* post contacto. Sin embargo, hallazgos posteriores, muestran claramente que *T. trichiura* se encontraba infestando al ser humano mucho antes de 1492 y antes de la llegada de los europeos a Chile. Un sitio arqueológico precolombino en Chile en los que se ha identificado *Trichuris trichiura* a partir del análisis de coprolitos presuntamente humanos, es Tulán, en San Pedro de Atacama, con una fecha de 1080 a 950 A.C.

(Gonçalves et al., 2003). En Santoro et al. (2003), por otra parte, se reporta la extracción e identificación de parásitos de coprolitos recuperados en excavaciones arqueológicas en el Valle de Lluta, próximo a Arica, con fechas precolombinas. La identificación se hace a través de un examen de microscopía, con lo que detectan, entre otros helmintos, a *Trichuris trichiura* tanto en el Periodo Tardío, posterior a la anexión del valle por parte del imperio Inca, como en el Periodo Intermedio Tardío pre- Inca.

En la zona sur del continente sudamericano, particularmente en Patagonia Austral, se han realizado algunos estudios de carácter paleoparasitológico que si bien aun no arrojan resultados importantes, es esperable que en un futuro cercano lo hagan. Debido a las estrategias de elevada movilidad que caracterizaban a los antiguos habitantes de la Patagonia Austral, los registros de coprolitos o letrinas son escasos, por lo cual hay que tener presente que los sedimentos arqueológicos libres pueden ser una importante fuente de información paleoparasitológica (Fugassa, Araújo y Guichón, 2006), aunque las expectativas que ofrecen de permitir hallazgos de huevos de geohelmintos son menores y su diagnóstico es aun más complejo que cuando provienen de otras fuentes. En el sitio arqueológico Orejas de Burro 1, provincia de Santa Cruz, Argentina (Fugassa y Barberena, 2006), mediante el análisis de sedimentos provenientes del contenido abdominal de un esqueleto, se hallaron huevos cuyo análisis microscópico resultó compatible con *Trichuris trichura*. No obstante, no se puede establecer un diagnóstico definitivo debido a que la posibilidad de contaminación de los sedimentos, ya que la cavidad abdominal presentó, como ha sucedido en otros casos, restos óseos y heces de roedor, las que sin embargo, tras ser analizadas, no mostraron la presencia de parásitos; otra posibilidad es que se trate de un falso parasitismo, producto del tránsito por los intestinos de partes crudas de otros animales que transportan los huevos de parásitos; una última posibilidad, es la percolación de los huevos desde capas superiores de sedimentos hacia el nivel del contenido abdominal del esqueleto. Huevos de *Trichuris sp.* fueron identificado en los sedimentos obtenidos de la cintura pélvica de un esqueleto ubicado en un enterratorio en el sitio Alero Mazquiarán, en la provincia de Chubut,

Argentina (Fugassa, 2006), sin embargo se trata de un hallazgo perteneciente a épocas post contacto europeo y además el hallazgo fue interpretado por el autor como producto de la contaminación por heces de un roedor. Otro hallazgo de estas características se realizó en el sitio arqueológico que se ha supuesto sería el antiguo asentamiento español Nombre de Jesús, correspondiente al primer intento de colonización del Estrecho de Magallanes, situado en el extremo oriental de él, que junto con Rey Felipe, asentamiento ubicado hacia el extremo oeste del canal, son conocidos por su fatídico final. A pesar de no tratarse de sitios precolombinos, en tanto constituyen ejemplos del ingreso de contingentes humanos europeos a territorios americanos que hasta entonces permanecían aislados, y considerando que estos asentamientos se formaron y desaparecieron también aislados, resultan de enorme interés paleoparasitológico cuando buscamos conocer las características epidemiológicas “naturales” de la Patagonia Austral en dicho periodo, aunque previamente a la formación de estos asentamientos, los colonos habían recorrido las costas atlánticas de América (Guichón et al., 2006), donde pudieron contraer algunas infecciones y transportar algunos parásitos. En la cintura pélvica de un esqueleto del sitio Nombre de Jesús, cuya afiliación étnica sería europea, Fugassa et al. (2006) han identificado huevos de *Trichuris sp.*, señalando que sus parámetros morfométricos se corresponden con *Trichuris trichura*. Debido a que la única otra subespecie de *Trichuris* cuyos huevos se asemejan a *T. trichura* es parasitaria de una especie de roedor que sólo habita en la parte norte de la Patagonia (*Ctenomys azarae*), y a que las heces de roedor son fáciles de identificar y no fueron halladas, los autores concluyen que los huevos identificados corresponderían a la forma de *Trichuris* parásita del ser humano.

A pesar de la gran cantidad de coprolitos que se han analizado en Norteamérica, sólo una vez se han encontrado evidencias de *Trichuris* en épocas precolombinas. En muestras de suelo de áreas de letrinas en Elden Pueblo, Arizona, sitio datado ca. 1100 D.C. se encontraron huevos de este helminto. Dichos especímenes no pudieron ser fehacientemente adscritos a la especie cuyo huésped es el ser humano (Hevly et al., 1979, en Gonçalves et al., 2003), y teniendo en cuenta la gran variedad de especies de

Trichuris que infestan a otros muchos mamíferos, este hallazgo debe ser visto con cautela. Esto establece una gran diferencia con el panorama de la infección en el registro arqueológico de Sudamérica, donde existen varios reportes precolombinos fehacientes en Brasil, Perú y Chile (Gonçalves et al. 2003).

5.4.4. *Enterobius vermicularis*

Enterobius vermicularis es la especie de helminto que se conoce como oxiuro, vulgarmente como “pidulle” y que en inglés es llamada pinworm. En el Viejo Mundo, existen evidencias indirectas de la presencia de *E. vermicularis* en la antigüedad a través de documentos, en lugares como China, Grecia, India y Arabia, en momentos antes de Cristo (Ferreira et al., 1985), sin embargo su registro en contextos arqueológicos sólo se remonta hasta el medioevo (Gonçalves et al., 2003).

En el Nuevo Mundo, los estudios paleoparasitológicos han mostrado la presencia de huevos de *Enterobius* en coprolitos humanos de hasta alrededor de 10.000 años de antigüedad en Estados Unidos (Horne, 1985). El sudoeste de Estados Unidos es prolífico en hallazgos precolombinos de este helminto, panorama que contrasta con los escasos ejemplos que se han reportado en Sudamérica. Entre estos, gran parte de las evidencias provienen de Chile. Ferreira y colaboradores reportaron huevos de *Enterobius* en 10 coprolitos humanos del sitio de Caserones, en el valle de Tarapacá (Ferreira et al., 1984; Araújo et al., 1985, en Araújo y Ferreira, 1995), con fechados precolombinos de 400 A.C. a 800 D.C. Gonçalves et al. (2003) reportan el hallazgo del parásito en Tiliviche, Iquique, con fechas tan antiguas como 4100 a 1950 A.C.; Otra evidencia precolombina es la reportada por Ferreira et al. (1989b, en Gonçalves 2003), proveniente de Tulán, en San Pedro de Atacama, cuya datación es de 1080 - 950 A.C. Santoro et al. (2003) dan cuenta del hallazgo de *Enterobius vermicularis* en su investigación respecto a las

consecuencias paleoparasitológicas de la expansión Inca en el valle de Lluta. La prevalencia diferencial del parásito entre los Periodos Intermedio Tardío (pre Inca) y Tardío (Inca) son interpretados por los investigadores como consecuencia de cambio en las conductas de la población. Según los datos que arroja dicho estudio, el 21% de los coprolitos del periodo tardío analizados contenían huevos de *Enterobius vermicularis*. Considerando que en condiciones normales de infección, sólo el 5% de los afectados presenta huevos del parásito en sus heces (Botero y Restrepo, 2003; Horne, 1985), aparentemente la población del valle de Lluta sufría de una hiperinfección de oxiuros durante la dominación Inca. La causa de esta elevada prevalencia del parásito, según los autores del estudio, sería que la población pasó de un patrón de asentamiento de unidades familiares dispersa a uno de agregación poblacional, con una densidad demográfica incrementada, constituyéndose grandes poblados de varias hectáreas en los que residían varios cientos de personas. Este fenómeno habría causado un quiebre en las condiciones de salud e higiene.

En zonas inmediatamente contiguas al territorio actualmente chileno, no existen registros paleoparasitológicos de *E. vermicularis*. El reporte más próximo es el de Patrucco et al. (1983), donde identifican al nematodo en el sitio Los Gavilanes en el valle de Huarney, en la costa norte de Perú, hallazgo que se constituyó en el primerode este organismo en un contexto precolombino sudamericano, datado en 2277 ± 181 A.C. (en Horne, 1985; Gonçalves et al., 2003). En Argentina, Zimmerman y Morilla (1983, en Araújo y Ferrerira, 1995) encontraron este parásito en coprolitos recolectados en un contexto arqueológico precolombino del que no existen fechados precisos.

La etología de este parásito lo hace muy particular dentro de los helmintos que se registran en lo contextos chilenos, debido a que, por motivos que expondremos más adelante, sus huevos escasamente quedan representados en los sedimentos de letrinas y coprolitos, por lo que en general se puede esperar que estén muy subrepresentados en los contextos arqueológicos. Sin embargo, existen evidencias que pueden indicar una

propensión de determinada población a verse infestada en mayor o menor medida por los oxiuros. Estudios de patoecología en agricultores prehistóricos demostraron que el tamaño de las infecciones parasitarias en un grupo era dependiente de los patrones sanitarios, del tipo de habitación y del ambiente, y que infecciones como *Enterobius vermicularis*, por ejemplo, mostraron patrones diferentes entre pueblos agricultores y cazadores recolectores prehistóricos (Goncalvez et al., 2002). Las condiciones próximas al hacinamiento son beneficiosas para esta especie. La movilidad de los grupos de cazadores recolectores, por ejemplo en grupos amazónicos actuales, facilita el mantenimiento de bajas cargas de helmintos, debido al frecuente abandono de los asentamientos, disminuyendo el contagio mediante los suelos contaminados (en el caso de geohelmintos) y refugios infestados (en el caso de *E.vermicularis*), aunque la prevalencia es alta dentro de las poblaciones (Morán, 1990). Por estos motivos, es esperable que los vestigios paleopatológicos de esta especie se den en mayor número y frecuencia en zonas como el área andina, donde se establecieron culturas sedentarias y con alta agregación poblacional, que en lugares como la Patagonia, caracterizado por grupos de vida nómada, de alta movilidad.

5.4.5. *Trichostrongylus*

La infección humana por *Trichostrongylus* hasta el momento sólo ha sido reportada en el registro arqueológico en sitios americanos, y la mayor parte de estos hallazgos tienen fechas precolombinas. El contexto más antiguo en que se ha realizado el diagnóstico paleoparasitológico de *Trichostrongylus* es el de Dust Devil Cave, en Utah, Estados Unidos, reportado por Reinhard et al. en 1985, proveniente de estratos datados en 6800 – 4800 A.C., aunque el diagnóstico aun permanece como incierto (Gonçalves et al., 2003).

Gonçalves et al. (2003) informan de dos hallazgos de *Trichostrongylus sp.* en Chile, ambos provenientes de sitios en San Pedro de Atacama. El más antiguo de estos tiene fecha precolombina, 1080 – 850 A.C., y corresponde a la presencia de huevos de este helminto en coprolitos provenientes de Tulán. No se entregan más antecedentes respecto a este descubrimiento. El segundo reporte proviene de Catarpe 2, con fecha 1450 –1525 D.C. En este caso, se señala que el diagnóstico resulta incierto. Los autores informan además del hallazgo del parásito en un sitio en la provincia de Neuquén, Argentina, fechado en 1000 – 500 A.P. Debe considerarse la posibilidad de que debido a la semejanza de los huevos de este parásito con los de *Ancylostoma sp.*, puedan llegar a ser confundidos ambos géneros en el examen paleoparasitológico convencional, consistente en el análisis microscópico morfométrico.

5.4.6. *Paragonimus*

Hasta la fecha no se ha reportado el hallazgo del parásito adulto en restos arqueológicos. Los huevos, sin embargo, han sido encontrados en coprolitos humanos provenientes de sitios en el desierto de Atacama en Chile (Gooch, 1976a y 1976b; Hall, 1976 y 1978; Hinz, 1990, en Aufderheide y Rodríguez-Martín, 1998). Hall reportó en 1976 (en Horne, 1985) el hallazgo de huevos de *Paragonimus*, probablemente, según el autor, de la subespecie *P. caliensis*, en coprolitos humanos provenientes del desierto de Atacama. Este investigador informó dos fechados para estos hallazgos: el más tardío situado en el 2500 A.C. (en 1976) y el más temprano, en el 5900 A.C. (en 1978, según Aufderheide y Rodríguez-Martín, 1998), dataciones que indicarían que el parásito tiene una larga historia en América, remontándose a épocas muy anteriores al contacto europeo.

Respecto al diagnóstico de la especie de *Paragonimus* a partir del análisis morfoscóptico de los huevos, cabe señalar que al menos en la práctica clínica este examen sólo es

confiable en manos de personal experimentado, debido a la similitud interespecífica que ofrecen los miembros de este género. Aun teniendo esto en cuenta, pueden producirse errores y confusiones con otros parásitos.

5.4.7. *Diphyllobothrium*

El hallazgo más antiguo reportado de *Diphyllobothrium sp.* tiene una fecha de 10.000 a 4.000 A.C. y corresponde a la evidencia de *D. pacificum* en la costa peruana reportada por Reinhard y Barnum (1991, en Gonçalves et al., 2003). El primer registro paleoparasitológico de *Diphyllobothrium* en América provino de Huaca Prieta, en la costa del valle de Chicama en Perú, reportado en 1960 (en Fouant et al., 1982; Reinhard y Urban, 2003). Allí, Callen y Cameron examinaron coprolitos, incluyendo algunos provenientes de la cavidad intestinal de un entierro humano, identificando en ese caso huevos del género *Diphyllobothrium*. La fecha adjudicada para estos hallazgos es de ca. 2500 A.C. (Horne, 1985).

En Chile, Ferreira et al. (1984) reportaron el hallazgo de huevos de *Diphyllobothrium pacificum* en 4 de 26 coprolitos humanos del sitio de Tiliviche, datados entre el 4110 al 1950 A.C. Se consideró que los coprolitos eran de origen humano basándose en la presencia de partículas de carbón y cuarzo y de restos de comida tostada. Lo interesante de este descubrimiento es que el sitio se encuentra a 40 km de la costa, a una altura de 950 m., lo que demuestra que la infección de *D. pacificum* no se remitía a las poblaciones costeras (lo que podría esperarse, de acuerdo con su ciclo biológico, en el cual el hombre es un huésped ocasional, ya que el parásito es propio de especies acuáticas, como veremos más adelante), y nos habla además de patrones de movilidad e intercambio entre poblaciones costeras y del interior, y de aspectos culturales compartidos, como el consumo de peces crudos o poco cocidos. Reinhard y

Aufderheide, en 1990, informan de un hallazgo en el norte de Chile de *D. pacificum*, que dataría del 4000 A.P. (Gonçalves et al., 2003; Aufderheide y Rodríguez-Martín, 1998, pg. 224). Este descubrimiento se habría hecho en coprolitos extraídos del intestino de momias Chinchorro y sin especificar los criterios de diagnóstico. En pos de corregir esto, Reinhard y Urban (2003) vuelven a analizar los huevos provenientes de momias Chinchorro que fueron reportados en esa oportunidad, con lo cual presentan la evidencia paleopatológica más antigua de huevos de *Diphyllobothrium pacificum*, asociados a momias humanas. El análisis refiere a coprolitos recuperados de la disección de momias Chinchorro cedidas a Arthur Aufderheide por el Museo Arqueológico San Miguel de Azapa, momias con entre 4000 y 5000 años de antigüedad. El valle de Lluta, vecino al Valle de Azapa, es otra zona en la cual se desarrolló la vida de cazadores recolectores Chinchorro. Más tardíamente, en dicho valle también se dieron ocupaciones de carácter agrícola. El Intermedio Tardío y el Tardío son dos periodos culturales en el valle de Lluta que, como ya se ha indicado cuando hablamos del registro paleoparasitológico de *Enterobius vermicularis*, fueron comparados por Santoro et al. (2003) en términos paleoparasitológicos para indagar de qué manera los cambios culturales y sociales que la expansión del imperio Inca produjo en la región impactaron en la salud de esas poblaciones. En el caso de *Diphyllobothrium pacificum*, sus huevos sólo fueron encontrado en el estrato correspondiente al Periodo Tardío, lo que puede indicar un cambio de dieta producto de costumbres importadas por los invasores.

5.4.8. *Hymenolepis nana*

Hoepli (1969, en Guerra y Sánchez, 199?) expresa sus dudas respecto a la presencia de cualquier tipo de tenia o gusano plano, incluyendo *Himenolepis nana*, en América precolombina, sugiriendo que habrían sido introducidos por los europeos. Sin embargo, aunque otras clases de tenias no se han encontrado representadas en el registro

precolombino, *H. nana* sí lo está; las evidencias arqueológicas de este helminto, no obstante, son escasísimas. El hallazgo más antiguo correspondiente al género *Hymenolepis* es reportado por Gonçalves et al. (2003) y se trataría precisamente de *H. nana*, en el sitio brasileño de Santa Elina, Mato Grosso, con fecha de 4000 – 2000 A.P. No se presentan mayores antecedentes sobre este descubrimiento. Además, existen dos hallazgos de huevos de helmintos atribuidos a *Hymenolepis sp.* en sitios de Estados Unidos, ambos precolombinos, uno en Elden Pueblo y otro en Antelope House, ambos en Arizona, en estratos fechados en 1070 – 1250 D.C. y 1175 – 1250 D.C., respectivamente (Reinhard et al., 1987, en Gonçalves, 2003).

El único otro reporte del parásito en un contexto precolombino proviene de un sitio chileno. Fue reportado por Santoro et al. (2003) donde, como ya indicamos, se comparan las poblaciones de parásitos intestinales en dos periodos de un mismo asentamiento precolombino en el valle de Lluta. En dicha investigación se encontraron huevos de *H. nana* en uno de los 15 coprolitos analizados correspondientes al periodo pre – Inca (Intermedio Tardío), mientras que en el análisis de 24 coprolitos del periodo Inca (Tardío) no arrojó la presencia de huevos de *H. nana*. En el estudio de Santoro y colaboradores no se realiza ninguna interpretación respecto a la desaparición de este céstodo del registro.

5.4.9. *Capillaria*

Huevos de *Capillaria sp.* han sido reconocidos en varios contextos arqueológicos del Viejo Mundo (Bouchet et al., 2003), sin embargo su registro en las Américas es muy raro. *Capillaria* no ha sido hallado en ningún sitio chileno. La zona más próxima donde se han identificado probables evidencias de este helminto es en la Patagonia Austral Argentina. En el sitio Orejas de Burro 1, una cueva ubicada en un cono volcánico antiguo al SE del campo volcánico Pali Aike, al sur de la provincia de Santa Cruz,

consistente en un enterratorio múltiple y niveles arqueológicos con indicios de actividad humana como fogones y acumulaciones de valvas marinas (Barberena *et al.*, 2006), con fechados de 3720-3978 años A.P., fueron identificados huevos de *Capillaria sp.* (Fugassa y Barberena, 2006). Sin embargo, según los autores, no pueden atribuirse a una especie en particular y su variabilidad morfométrica podría sugerir la presencia de más de una especie del género. Por otro lado, el contenido de los sedimentos de la zona abdominal del esqueleto que fue analizado presentaban restos óseos y heces de roedor, por lo que los autores sostienen la posibilidad de que los vestigios de *Capillaria sp.* identificados sean producto de la contaminación, a pesar de que los coprolitos de roedor analizados no arrojaron la presencia de huevos de esta especie. En el examen de sedimentos del sitio arqueológico de Alero Mazquiarán, en Chubut, Patagonia Austral Argentina (Fugassa, 2006), también se detectó la presencia de huevos de *Capillaria sp.* en la cavidad abdominal de un esqueleto. El contexto corresponde a épocas posteriores al contacto Europeo. El autor sostiene que en este caso el hallazgo es resultado de la contaminación de la zona pélvica por parásitos de roedores, descartando que se trate de evidencia de una infección humana. Existen además otros hallazgos de este parásito en la Patagonia que no han sido aun sistematizados, pero que probablemente no responden a diagnósticos adscribibles a infecciones humanas (eg. Fugassa y Guichón, 2005). Por otro lado, no existen otros diagnósticos paleoparasitológicos seguros de este helminto en otros contextos arqueológicos de Sudamérica (Gonçalves *et al.*, 2003), por lo que estas evidencias, insuficientes y localizadas fuera del territorio al que nos acotamos, serán descartadas dentro de este estudio.

5.5. DISCUSIÓN Y SUMARIO

La precedente revisión bibliográfica nos indica que tenemos suficientes datos para sostener con seguridad que en épocas precolombinas algunas poblaciones del actual territorio chileno sufrieron infestaciones por parte de los siguientes helmintos:

- a) *Ancylostoma duodenale* y/o *Necator americanus*
- b) *Trichuris trichiura*
- c) *Enterobius vermicularis*
- d) *Trichostrongylus* sp.
- e) *Paragonimus* sp.
- f) *Diphyllobothrium* sp.
- g) *Hymenolepis nana*

En los siguientes capítulos nos abocaremos a estos helmintos, en pos de determinar las posibilidades de estudio que aporta cada uno de ellos. Hemos descartado, dentro de los helmintos analizados aquí, a *Ascaris lumbricoides* y *Capillaria* sp. debido a que no se han registrado en contextos arqueológicos dentro del territorio chileno y las evidencias que existen en zonas próximas, cuando las hay, son poco fiables.

El análisis realizado en las anteriores páginas nos muestra claramente como los hallazgos paleoparasitológicos chilenos se concentran de forma importante en la zona del Norte Grande. Las condiciones climáticas en que se localizan los sitios arqueológicos de dicha área resultan ideales para la preservación de coprolitos y de los huevos de parásitos helmintos, como lo manifiesta la importante cantidad de hallazgos que se han realizado en esos contextos, a lo que se suma el importante antecedente de la momificación, tanto artificial, como la practicada por la cultura Chinchorro, como la espontánea, y que ha dado como resultado una clase de material que se constituye en una enorme ventaja a la hora de afrontar investigaciones paleoparasitológicas y

paleopatológicas de cualquier tipo. Existen otras condiciones, de carácter cultural e histórico, que, al menos para ciertos periodos arqueológicos, nos sugieren buenas perspectivas para la indagación paleoparasitológica, procesos más o menos bien estudiados en el área como la adopción del sedentarismo, de la agricultura, la domesticación de animales, el acceso a diferentes ambientes y recursos, la agregación poblacional y el crecimiento demográfico, etc. Aunque aun es controversial el efecto que este tipo de cambios en los patrones de asentamiento o de subsistencia tiene en la salud de las poblaciones, existiendo tanto estudios que demuestran los perjuicios del sedentarismo y la agricultura, así como estudios que hablan de los beneficios que trajeron estos nuevos modos de vida en las expectativas de vida y en el estado nutricional (Verano y Lombarda, 1999), está claro que la adopción de dichas formas de subsistencia tiene un decisivo impacto en los patrones generales de salud de los grupos que viven dichos procesos. Sin embargo, en general se acepta que las primeras culturas agrarias sufrieron una disminución en la calidad de su dieta, debido a su dependencia de uno o unos pocos tipos de cultivo, lo cual debería haber repercutido en una exacerbación de los efectos de las enfermedades. Estos aspectos vuelven al área andina del norte de Chile un campo particularmente fértil para las investigaciones paleopatológicas y en especial para aquellas que derivan de las evidencias paleoparasitológicas, en la perspectiva de indagar en cómo enfrentan diferente poblaciones los retos planteados por los cambios en los patrones de ocupación del espacio. En los Andes centrales, con el desarrollo de la irrigación, las poblaciones de los valles bajos comenzaron a depender cada vez más de la agricultura del maíz. Este grano, como alimento, es deficiente en hierro, proteínas y algunas vitaminas. La asociación entre anemia y la dependencia a dicho cultivo, así como la asociación entre anemia y la economía basada en la pesca, ha sido comprobada en varias zonas (Blom et al., 2005). Se ha demostrado que los habitantes de las tierras bajas de la zona que nos ocupa aquí, la costa de los andes sur peruanos y del norte de Chile, pescadores y agricultores, presentan altas tasas de anemia, en contraste con la virtual ausencia de esta patología entre los habitantes de las zonas altas. Esto fue observado ya por Hrdlicka (1914, en Blom et al., 2005) y se expresa en el

registro osteológico por signos como hiperostosis porótica y criba orbitalia, lesiones que sin embargo son inespecíficas y no patognomónicas (White y Folkens, 2005). Por otro lado, se ha sentado la posibilidad de que las fuentes de agua dulce de estos grupos hayan estado contaminadas por los habitantes de zonas más altas (Blom et al., 2005). Esto podría haber propiciado la ocurrencia de algunas helmintiasis, así como de otras infecciones, factor que también podría producir los signos que han sido observados en esqueletos provenientes de las costas peruanas y chilenas (e.g. Costa-Junqueira et al., 2000), que han sido descritos frecuentemente como característicos de estados de anemia ferropénica; el estudio de Blom et al. (2005) en una importante muestra de origen peruano concluye, de hecho, que factores de estrés ambientales como los parásitos y otra enfermedades, explicarían mejor la prevalencia de anemia en la niñez que los aspectos relacionados con las prácticas dietéticas en las costas andinas. Además detectan que la prevalencia de anemia en la niñez era mayor en los sitios ubicados en zonas menos áridas, lo que relacionan directamente con el efecto de los parásitos helmintos que se habrían multiplicado con más éxito en tanto más húmedo haya sido su entorno. En relación con estos puntos, existen interesantes propuestas a partir de las evidencias paleoparasitológicas de *Dyphyllobothrium* en el norte de Chile y sur del Perú. En poblaciones contemporáneas chilenas se ha reportado la ocurrencia de anemia megaloblástica debida a la infección por *Dyphyllobothrium latum* (Semenes y Ubeda, 1997). Como señala Rothschild (2000) este tipo de anemia, bien asociada a un género de parásito helminto que sin lugar a dudas afectó a las poblaciones costeras del norte de Chile y sur de Perú en épocas precolombinas, puede también explicar los trastornos observados con tanta frecuencia en el registro esquelético, quizá de mejor forma que otras clases de anemia, como la anemia ferropénica o la producida por pérdida de sangre que podría ser provocada, por ejemplo, por *Ancylostoma*. Además de estos aspectos paleopatológicos, la presencia de huevos de *Dyphyllobothrium*, que ha sido bien documentada, como ya se indicó, en momias Chinchorro, ha permitido convertir a este helminto en un indicador de un hábito cultural que aun se conserva entre los habitantes de esta región, el consumo de carne de pescado cruda. De acuerdo con los modelos

etnohistóricos que se han propuesto para los Andes Centrales (Murra, 1975), basados en una “integración vertical”, las comunidades andinas precolombinas, y hasta tiempos históricos, explotaban recursos de diferentes microambientes en sentido altitudinal. De este modo, el registro arqueológico nos muestra, por ejemplo, como recursos marinos se encuentran permanentemente dentro de la economía de grupos agropastorales del interior. A partir de estos hechos, Aufderheide et al. (2002) postulan que la ausencia de difilobotriasis en un análisis de momias Alto Ramírez y Cabuza, datadas circa 350 A.C. a 500 D.C., y que presentaban sin embargo evidencias de ingesta de peces oceánicos, pondrían de manifiesto las diferentes costumbres entre los grupos costeros y los del interior relativas a la forma de consumo de los alimentos, ya que el contagio de dicho helminto tan frecuente entre los pescadores chinchorro depende de la ingesta de los quistes crudos. Esto hace suponer a estos investigadores que los habitantes de las tierras altas tenían la costumbre de cocinar los alimentos antes de comerlos, a diferencia de los pobladores de la costa. No obstante, como señalamos al principio de este capítulo, hay que ser cautelosos con las inferencias desarrolladas a partir de la ausencia de la evidencia, en este caso la ausencia de una infección helmíntica en un universo de sólo 8 casos. Otro aspecto interesante que se puede extraer del fenómeno parasitario del norte grande chileno proviene de estudios que correlacionan en la actualidad la prevalencia de las infestaciones por *Dhiphyllobothrium* y los efectos en el entorno que tienen los eventos ENOS (El Niño y La Niña) en la zona. Sagua et al. (2001) señalan que algunas enfermedades parasitarias se manifestarían con tasas mayores durante la ocurrencia de este fenómeno debido a las alteraciones que sufre el medio ambiente por lo cambios meteorológicos agudos que se suceden, como el incremento de la pluviosidad que favorece la proliferación de vectores, la migración de mamíferos, peces y aves que cumplen el rol de huéspedes intermediarios y definitivos, y la contaminación de los sistemas de irrigación que incrementa las posibilidades de transmisión de determinados organismos patógenos. Estos investigadores demuestran mediante datos históricos la relación cronológica entre la presencia de eventos El Niño en las costas chilenas y la aparición de infecciones humanas debidas a *D. pacificum*. Si bien no es dable extrapolar

estos datos hacia el pasado precolombino, esta clase de investigaciones sumadas a los datos paleoparasitológicos pueden aportar nuevos antecedentes para desentrañar y describir el mundo en que vivían las sociedades precolombinas del norte chileno y la forma en que se vinculaban con su entorno.

Como hemos visto, el norte grande es la zona más fértil en términos paleoparasitológicos en Chile. Sin embargo, en muchos de estos contextos no se han encontrado endoparásitos, y si bien es cierto que la mayoría de las ocasiones esto puede responder a que no se han buscado o a problemas de la muestra, en otros casos donde sería esperable hallar evidencias de helmintos, se han encontrado escasamente o no se han hallado en absoluto. Por ejemplo, a pesar del enorme número de momias exhumadas por Allison y colaboradores, en apariencia el número de identificaciones de huevos de helmintos informadas es escaso. Aufderheide et al. (2002), en un estudio paleopatológico sobre una muestra de momias del valle de Azapa (Az-75), señalan expresamente la no aparición de rastros de enteroparásitos. Pero, no obstante, es interesante hacer notar que el único estudio arqueológico de un sitio chileno enfocado expresamente a realizar un análisis paleoparasitológico (Santoro et al., 2003), arroja una sorprendente cantidad de datos nuevos, hallando mediante el análisis de 39 coprolitos de diferentes periodos de un mismo sitio, 4 diferentes especies de helmintos, incluyendo una que no había sido encontrada previamente en material chileno y que es muy rara en el contexto americano precolombino (*Hymenolepis nana*).

En el sur del país la situación es menos auspiciosa para la paleoparasitología, ya que exceptuando casos extraordinarios de congelamiento como el de la momia de el cerro El Plomo (Pizzi y Schenone, 1954, en Fouant, 1982), debido a las condiciones climáticas y geofísicas, la conservación de las evidencias de helmintos parásitos humanos es mucho menos probable y los vestigios, de haberlos, son más complejos de hallar e interpretar. De hecho, como pudimos apreciar en la revisión precedente de las fuentes, no existen hallazgos paleoparasitológicos en Chile, salvando el ejemplo de El Plomo, fuera del

Norte Grande, y los ejemplos más próximos en la zona meridional del continente se ubican en la Patagonia argentina, siendo aun escasos y presentando en general serios problemas de interpretación debido a las posibles fuentes de contaminación. En esa zona se han obtenido escasos registros de parásitos específicos de humanos, a pesar de que el análisis de coprolitos y sedimentos ha ido en incremento. Además, este hecho está muy determinado, probablemente, por las características de las poblaciones que habitaron dicha zona, muy diferentes en términos de ocupación del espacio y aprovechamiento de los recursos en comparación con las culturas que vivieron en épocas precolombinas en el área andina y las costas del norte de Chile. Los registros arqueológicos y etnográficos indican claramente que los grupos humanos de la región meridional de Patagonia se caracterizaban por formar grupos de reducida demografía y de alta movilidad (Borrero, 2001), distribuidos en un enorme espacio, características que habrían implicado un menor contacto interpersonal y menores probabilidades de contagio a través de suelos contaminados. Sin embargo, análisis actuales en grupos de estas características, han permitido inferir la baja probabilidad que éstos presentan para el desarrollo de infecciones de alta virulencia, debido a que estas enfermedades declinan de forma acelerada en comunidades aisladas y de baja densidad poblacional (Suby et al., 2006). De este modo, resultarían más probables para los habitantes de esta región las enfermedades con largos periodos de latencia y de virulencia baja, como las provocadas por endoparásitos. Por lo tanto, en la medida en que se hagan más estudios en el área y se mejoren las técnicas de recogimiento, análisis e interpretación de los datos, sería esperable que la paleoparasitología de esta área aportara mejores resultados respecto a aspectos como la penetración de grupos humanos en nuevos entornos y los retos epidemiológicos que enfrentaron, tales como la adquisición de infecciones zoonóticas.

6. DESCRIPCIÓN GENERAL Y CICLOS BIOLÓGICOS DE LAS ESPECIES DE HELMINTOS PARÁSITOS PRESENTES EN EL REGISTRO ARQUEOLÓGICO CHILENO

Los gusanos o helmintos son un conjunto de organismos cuya clasificación responde a su forma más que a su filogenia. De hecho, aquellos animales que se agrupan bajo esta denominación son los representantes de 4 phylum principales: Platyhelminths o gusanos planos; Acanthocephala; Nematelminths o nemátodos (gusanos “redondos”); y Annelida (o Annulata), los gusanos segmentados. En la presente sección se hace una descripción de las características biológicas generales de los helmintos que forman parte del registro paleoparasitológico chileno, tal como fue pormenorizado en el capítulo anterior. Aquí, además de describir en cada caso al helminto y a sus huevos (elemento importante para el análisis paleoparasitológico), las características de la enfermedad que provocan en el ser humano y su importancia en términos de salud pública, nos enfocaremos sobre las condiciones ambientales, requerimientos ecológicos y cursos posibles de sus respectivos ciclos biológicos. Las intrincadas correlaciones que estos parásitos establecen con su entorno y con su huéspedes corresponde a uno de los aspectos que los vuelve interesantes desde el punto de vista de la indagación bioantropológica, como hemos indicado. Una vez conocidos sus ciclos de vida, podremos realizar inferencias ecológicas a partir de ahí y en relación a los aspectos paleoparasitológicos que ya conocemos, lo que nos permitirá apreciar vinculaciones de estos parásitos con los eventos demográficos de sus huéspedes. Estos aspectos son otra pieza a la hora de determinar aquellos parásitos metazoos que pueden ser una fuente de información desde la perspectiva que proponemos en este estudio, en la que iremos profundizando en los capítulos subsiguientes.

6.1. *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*

6.1.1. Generalidades

Agrupados en los países de habla inglesa bajo el nombre de hookworm, las especies de nemátodos de la familia Ancylostomatidae son las causantes de una geohelmintiasis conocida como uncinariasis, anquilostomiasis, necatoriasis o anemia tropical (Botero y Restrepo, 2003). Estas especies constituyen la infección helmíntica más importante para el ser humano, en términos de dispersión y prevalencia (Chandler, 1955; Hotez et al., 2005). Su distribución actual comprende aproximadamente desde el paralelo 36 en el norte y el paralelo 30 en el sur (Chandler, 1955). Se estima que 1,3 billones (1300 millones, 1,3 billones estadounidenses) de personas están infestadas con este parásito en el mundo (de Gruijter et al., 2005), de los cuales unos 78 millones estarían afectadas clínicamente (Hu et al., 2002). Otros cálculos, basados en el análisis de la literatura desde 1990, indicarían que el número de personas infectadas por hookworm en el mundo sería de unos 740 millones (Hotez et al., 2005); Aufderheide y Rodríguez-Martín (1998) indican que el parásito se encuentra probablemente en un 20-25% de la población del planeta. Lo que está claro es que se trataría del helminto parásito más común en las poblaciones humanas. La escasa importancia que la comunidad médica internacional le ha prestado a este parásito en comparación con otras infecciones reside en parte en el carácter “silencioso” de los efectos patógenos que provoca, y por otro lado a los factores socioeconómicos asociados, ya que existe una estrecha relación entre la prevalencia de la uncinariasis y la pobreza, concentrándose esta afección en los países más marginales y pobres del planeta.

Esta parasitosis se expresa clínicamente como una enfermedad crónica que produce anemia ferropénica, microcítica e hipocrómica, hipovitaminosis A e hipoproteinemia (Rodríguez-Martín, 2000). Esto puede resultar en retardo mental, problemas cardíacos y déficit de crecimiento, particularmente cuando la infección se produce en la niñez (de

Gruijter et al., 2005). El ser humano es huésped de sólo dos especies de la familia Ancylostomatidae, *Necator americanus*, descubierto en Brasil y la especie actualmente más común en América, pero cuyo origen, no obstante su nombre, sería África, y *Ancylostoma duodenale*, originado en Asia (Cox, 2002). La infección producida por estos helmintos es endémica en amplias zonas tropicales y subtropicales, en países tercermundistas donde las malas condiciones de higiene favorecen el desarrollo de las larvas infectantes.

Ancylostoma duodenale y *Necator americanus* son helmintos parásitos hematófagos. Ambos causan un grave daño en la pared intestinal. Se calcula que cada gusano adulto puede ser responsable de la pérdida diaria de 0.04 ml (*Necator*) a 0.2 ml (*Ancylostoma*) de sangre. La morfología macroscópica es similar entre estos dos parásitos, descritos como gusanos cilíndricos blancos de aproximadamente 10 mm de longitud, siendo la hembra 2 a 4 mm de longitud más grande que el macho. La cápsula bucal, en el extremo anterior, está provista de dientes o placas, que le permiten al parásito adherirse y herir la mucosa intestinal, produciendo hemorragia. La morfología de la cápsula bucal es uno de los criterios más confiables para diferenciar especies de uncinarias en ejemplares adultos (Chandler, 1955). Esta cápsula actúa como una bomba de aspiración, con un bulbo muscular que se contrae rítmicamente desde el esófago, el que se continúa en un intestino tubular que desemboca en la cloaca. El interior de los parásitos, además de este aparato digestivo, contiene los órganos genitales.

Los huevos de *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus* son morfológicamente indistinguibles entre sí, presentando una forma ovalada, un tamaño de 60 a 40 micras, color blanco, una membrana única muy uniforme y un espacio entre ella y el contenido interior. No puede diferenciarse entre estas dos especies cuando los únicos restos disponibles son los huevos, lo que ocurre en la mayoría de los casos arqueológicos, en coprolitos o sedimentos de letrinas. La diferenciación de las larvas, además, es problemática, sobre todo en material rehidratado (Gonçalves et al., 2003).

La morbilidad de este parásito es mayor entre los individuos que presentan un gran número de helmintos adultos. Estimaciones de la intensidad de la infección helmíntica se obtienen típicamente mediante el conteo de huevos observables en las heces, con lo que se estima el número de gusanos que parasitan a un individuo. Hay síntomas severos de la infección cuando un huésped tienen unos 100 *N. americanus* o 30 *A. duodenale* (Botero y Restrepo, 2003). Una pérdida de sangre de 0.2 ml por día puede ser perfectamente compensada por un incremento en la actividad hematopoyética de la médula ósea, pero cuando una infropoblación (todos los individuos de una especie de parásito que habitan el mismo huésped) de *Ancylostoma sp.* provoca la pérdida de una cantidad de sangre que supera el máximo de producción de la médula, se presenta la anemia, que aparece frecuentemente en su forma ferropénica, acelerándose su aparición en poblaciones cuya dieta contempla un consumo bajo de hierro, por ejemplo debido a un reducido consumo de carne y a economías basadas en monocultivos nutricionalmente pobres como el maíz.

El grupo de personas en mayor riesgo de infección por hookworm es aquel con un nivel de hierro deteriorado o con anemia por deficiencia de hierro. Esto es un factor común a cualquier clase de infección, ya que la proporción de hierro en el organismo influye en el funcionamiento del sistema inmunitario. Niñas adolescentes, mujeres en edad reproductiva y aquellas que están embarazadas son más vulnerables, y los individuos con fuertes cargas de otros helmintos estarán también en riesgo de sufrir la enfermedad inducida por las uncinarias. Infecciones de hookworm se encuentran regularmente en las mismas comunidades que son afectadas por *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura* (Crompton, 2000).

Los pacientes con uncinariasis severa adquirida en la niñez pueden presentar importante retraso en el desarrollo mental y físico, en el desarrollo sexual y alteraciones de la conducta. En algunas oportunidades la infección por uncinarias puede tornarse en una patología ósea, consistente en inflamación articular y lesiones osteolíticas inespecíficas, pero estas manifestaciones son muy raras (Rodríguez-Martín, 2000) y con escaso potencial diagnóstico al no producir signos patognomónicos. Las manifestaciones óseas

secundarias a anemia crónica, como criba orbitalia e hiperostosis porótica, también deberían ser tenidas en cuenta en el análisis paleopatológico en pos de la posibilidad de adjudicarlas, al menos en parte, a infecciones producidas por estos nemátodos, sobre todo en las regiones donde esta parasitosis es endémica.

6.1.2. Ciclo Biológico

Estos helmintos parasitan exclusivamente al ser humano, no precisando de estadios de vida en huéspedes intermediarios, aunque sí de un periodo de incubación en el suelo. Los ciclos de vida de *Ancylostoma* y de *Necator* son similares. La infección ocurre cuando las larvas penetran la piel, normalmente del pie. Los parásitos adultos viven fijados a la mucosa del intestino delgado, principalmente en el duodeno y yeyuno, donde ocasionan la pérdida crónica de sangre, y en consecuencia pueden provocar anemia por deficiencia de hierro (Botero y Restrepo, 2003).

La duración de la vida de *N. americanus* varía de 4 a 5 años y la de *A. duodenale* entre 6 y 8 años (Gonçalves et al., 2003). El número de huevos que produce un parásito puede alcanzar los 10.000 por día en el caso de *Necator americanus* y hasta los 25.000 o 30.000 por día en el caso de *Ancylostoma duodenale*, los que abandonan el cuerpo del huésped a través de las materias fecales (Botero y Restrepo, 2003; Hotez et al., 2005).

Al caer en la tierra junto con las heces, los huevos requieren de condiciones de humedad y temperatura óptimas (entre 20° a 30° C) para embrionar dentro de 1 a 2 días. A temperaturas muy altas o muy bajas, los huevos mueren, y tampoco pueden desarrollarse en condiciones de extrema humedad o sequedad o de intensa luz solar. Así, a una temperatura más baja que la óptima, de 7° a 13° C, el periodo necesario para que estos huevos embrionen se puede extender hasta entre 7 y 10 días (Botero y Restrepo, 2003). El tipo de suelo más apropiado para la supervivencia de estas larvas son los terrenos arenosos o con restos de vegetales y hojas sueltas, sombreados y con un nivel moderado

de humedad. En condiciones adecuadas las larvas pueden permanecer vivas en el suelo por varios meses. El rango óptimo de temperatura para las larvas de vida libre es de 20° a 27° C. para *A. duodenale* y de 28° a 32° para *N. americanus* (Stephenson y Latham, 2003).

La transmisión es de tipo horizontal entre los seres humanos, no precisándose ningún contacto directo entre los huéspedes ya que estos parásitos deben pasar necesariamente por una etapa en el suelo. Las larvas que se forman en la tierra son de dos tipos, o más bien, pasan por dos etapas con morfologías distintivas. La larva *rhabditiforme* es la que sale del huevo, es de vida libre y se alimenta de bacterias. Ésta se transformará en la larva *filariiforme* o *strongyliforme* (Chandler, 1955), que es la forma infectante. Las larvas filariformes han perdido su cápsula bucal, por lo que son incapaces de alimentarse, siendo su única función infectar al ser humano. Las larvas infectantes de *A. duodenale* pueden penetrar la mucosa oral, no así las de *N. americanus*. De esta forma, mientras las de *Necator* infectan a sus huéspedes exclusivamente por penetración de la piel, las larvas de *Ancylostoma* también pueden servirse de la contaminación de las aguas y los alimentos por materias fecales para su dispersión. En *A. duodenale*, además, se ha descrito que puede ocurrir transmisión transplacentaria y también transmisión transmamaria. Sin embargo, es poco probable que estas últimas dos vías de transmisión presenten una frecuencia significativa en términos de salud pública (Stephenson y Latham, 2003).

Las larvas filariformes presentan tropismos especiales para adherirse a la piel (tigmotropismo, termotropismo, geotropismo negativo). Estas larvas se adhieren a la piel y con la ayuda de lancetas y secreciones líticas penetran el epitelio hasta encontrar los vasos linfáticos o las vénulas, por donde acceden hasta el corazón derecho. Desde ahí, pasan al pulmón, rompen los capilares y caen en los alvéolos, donde se hospedan por un tiempo y se desarrollan. Más tarde toman un curso ascendente, por los bronquios y la

traquea hasta llegar a la laringe, donde la mayoría de las larvas pasará a ser deglutida, llegando finalmente al intestino delgado, donde crecen hasta alcanzar su forma adulta.

Desde la penetración de las larvas a través de la piel hasta que los parásitos llegan a ser adultos con capacidad de producir huevos en el intestino pueden pasar de 6 a 8 semanas. Algunas larvas de *A. duodenale*, sin embargo, pueden no concluir su desarrollo de esta forma, alojándose en tejidos musculares o intestinales donde permanecen en estado latente hasta por unos 200 días antes de reanudar su crecimiento hacia la madurez (Botero y Restrepo, 2003). Este fenómeno, conocido como hipobiosis, ha sido observado con frecuencia en otros nematodos, incluidas especies propias de animales domésticos (eg. Romero y Boero, 2001). Se trataría de una estrategia en la que la larva de vida libre es capaz de detectar las condiciones del ambiente y desarrollarse o permanecer en estado latente, una vez a ingresado al cuerpo del huésped, de acuerdo a si las condiciones externas son favorables o desfavorables para su supervivencia (Loukas y Prociv, 2001).

6.2. *Trichuris trichiura*

6.2.2. Generalidades

El nematodo *Trichuris trichiura* o tricocéfalo, también llamado en inglés *whipworm*, es el helminto parásito intestinal humano que causa una infección conocida como tricocefalosis o tricuriasis. Existen unas 70 especies del género *Trichuris*, reportadas en una gran variedad de huéspedes mamíferos. *Trichuris trichiura* tienen como principal huésped a los seres humanos, aunque también se ha reportado la infección en cerdos, lémures y monos (Stephenson et al., 2000). Especies muy semejantes infestan a gatos, perros, ovejas, vacas, conejos, ratas y ratones.

Trichuris trichiura no requiere huéspedes intermediarios en su curso de infección. Los humanos se infectan directamente por la ingesta de huevos embrionados a través de las manos contaminadas, la comida, el suelo o el agua. La forma adulta de este helminto es la de un gusano blanco de entre 3 y 5 cm de largo. Las hembras son de mayor tamaño que los machos, aunque la diferencia es menos pronunciada en esta especie que en otros helmintos. Los dos tercios anteriores del cuerpo del gusano son delgados y su tercio posterior es más grueso, conteniendo los intestinos y los órganos reproductores.

Una hembra puede producir hasta 20.000 huevos por día (Botero y Restrepo, 2003). Los huevos son muy característicos, lo que permite su diagnóstico certero. Miden alrededor de 22-25 micras de ancho por 50-54 de largo (Botero y Restrepo, 2003; Stephenson et al., 2000). Son de color café y poseen una membrana doble y dos prominencias polares, semejantes a tapones translúcidos, presentando una característica forma de barril o de limón.

El tamaño de los huevos puede ser algunas veces una buena herramienta para la identificación de la especie de *Trichuris* en coprolitos de origen desconocido (Gonçalves et al., 2003). Estos huevos son poco resistentes a la desecación, en comparación, por ejemplo, con *Ascaris lumbricoides* (Brown y Belding, 1965).

La infestación causada por este helminto es una de las infecciones gastrointestinales de mayor prevalencia en el mundo, sin embargo en la mayoría de los casos es asintomática (Machado et al., 2003). Se ha calculado que habrían unos 500 millones de personas infectadas en el mundo por *T. trichiura* (Brown y Belding, 1965). El número de casos clínicamente significativos es frecuentemente mayor en el grupo etáreo de 5 a 15 años. Al menos 27 millones de niños en edad escolar se considera que están infectados en la región de África Subsahariana, 37 millones en India, 42 millones en China, 70 millones en el resto de Asia y las islas cercanas, 39 millones en América Latina y el Caribe, y 18 millones en Medio Oriente (Stephenson et al., 2000).

La principal patología que produce *Trichuris trichiura* es producto de la lesión mecánica en la mucosa del intestino grueso. Es una lesión traumática que ocasiona inflamación local, edema y hemorragia, con pocos cambios histológicos. La gravedad de la patología es proporcional al número de helmintos. En los casos graves puede desarrollarse prolapso de la mucosa rectal.

En general, se acepta que estos parásitos no son hematófagos, a diferencia de *Ancylostoma* y *Necator*, por ejemplo. Las enfermedades concomitantes a la infección agravan las lesiones de la tricocefalosis. La infección intensa y crónica por *T. trichiura* en niños mal nutridos causa anemia y falta de desarrollo en la estatura (Botero y Restrepo, 2003). *T. trichiura* es con frecuencia encontrado en infecciones múltiples junto a *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostomas* y *Entamoeba histolytica*. Se ha establecido esta clase de asociaciones también en registros arqueológicos, siendo común la presencia conjunta en una misma población de *Ascaris* y *T. trichiura* en contextos medievales europeos (Bouchet et al., 2003; Chaves da Rocha et al., 2006). De la misma manera, las intensidades de las infecciones de *T. trichiura* y *A. lumbricoides* frecuentemente se reportan como altamente correlacionadas, incluso mostrando una interacción positiva, donde la intensidad de la infección por *T. trichiura* es mayor en personas con una infección concurrente de *A. lumbricoides* que en aquellas infecciones no concomitantes (Stephenson et al., 2000).

6.2.2. Ciclo Biológico

Después de copular, la hembra produce entre 3.000 y 20.000 huevos por día, los que salen del cuerpo del huésped con sus materias fecales para reanudar el ciclo. Esta helmintiasis se transmite de huésped a huésped con un paso obligado por el suelo.

Los huevos sin embrionar salen junto a las heces humanas al ambiente. Cómo *Ancylostoma* y *Ascaris*, *T. trichiura* es un geohelminto cuyos huevos para embrionar y tornarse infectante necesitan que el suelo presente una temperatura adecuada, ni extremadamente frío o caliente, en un rango de 14° a 30° C, según Botero y Restrepo (2003), o entre 20° y 30° C, según Horne (1985), una humedad adecuada y una adecuada oxigenación. Los huevos no se desarrollan bajo luz directa del sol y mueren bajo un temperatura de -9° C y sobre los 52° C (Stephenson et al., 2000). Las condiciones ideales están dadas por suelos sombrados, cálidos y húmedos. Lo ideal son los terrenos arenosos o arcillosos. Debe hacerse notar que si bien la epidemiología de *T. trichiura* es similar a la de *Ascaris lumbricoides*, ya que ambos son geohelminthos que se adquieren por vía oral, los huevos de *T. trichiura* son más sensibles a la desecación del suelo (Botero y Restrepo, 2003: 110).

Si se cumplen las condiciones ambientales adecuadas, la embrionación de los huevos ocurre en un periodo de entre dos semanas a varios meses, según Botero y Restrepo (2003), entre 18 a 25 días, según Horne (1985), entre 3 a 6 semanas según Chandler (1955); lo que es claro es que el proceso que lleva a los huevos de *T. trichiura* a convertirse en infectantes es más lento que en otros geohelminthos. Estos huevos embrionados pueden sobrevivir en la tierra, si las condiciones lo permiten, por varios meses o años, mientras el suelo no se deseque.

No existe un huésped intermediario en el ciclo de *T. trichiura*. La infección de *T. trichiura* ocurre de forma directa por vía oral mediante la ingestión de los huevos embrionados, los que llegan a la boca con la tierra o junto a bebidas o alimentos contaminados. El destino de la larva durante los primeros 5 a 10 días después de la ingestión por humanos es controversial (Stephenson et al., 2000). Los libros de parasitología usualmente establecen que en el aparato digestivo del huésped la membrana de los huevos se ablanda de manera que las larvas se liberan en el duodeno, donde penetran las glándulas de Lieberkhun, permaneciendo temporalmente ahí, sitio en

el cual pasan por un corto periodo de desarrollo de aproximadamente una semana para luego re ingresar al lumen intestinal y migrar hacia el colon, donde se adhieren a la superficie mucosa por intermedio de una lanceta retráctil que poseen en su extremo anterior (Botero y Restrepo, 2003). Sin embargo, no se han hecho estudios de la fase duodenal del parásito en seres humanos y las observaciones en otros animales son conflictivas (Stephenson et al., 2000). Desde el momento en que los huevos embrionados son ingeridos hasta que los parásitos se desarrollan en adultos capaces de producir nuevos huevos, transcurre un periodo de 1 a 2 meses (Botero y Restrepo, 2003) o hasta 90 días (Stephenson et al., 2000). *Trichuris trichiura* puede vivir entre 6 y 8 años.

6.3. *Enterobius vermicularis*

6.3.1. Generalidades

Enterobius vermicularis, también denominado *Oxyuris vermicularis*, conocido en inglés como pinworm y en Chile llamado vulgarmente pidulle, es un nematodo de amplia distribución en el mundo y que afecta principalmente a los niños.

Morfológicamente corresponde a un gusano pequeño (la hembra mide alrededor de 1 cm de longitud; el macho, aproximadamente 0.5 cm), delgado y de color blanco. La hembra tiene su extremo posterior recto y muy puntiagudo, rasgo característico que permite su identificación macroscópica. El aparato genital está muy desarrollado y en estado de gravidez el útero, repleto de huevos, ocupa casi todo el cuerpo de la hembra. El macho tiene su extremo posterior curvo y presenta una espícula copulatriz. Los huevos son blancos y traslúcidos, con uno de sus lados aplanados, de manera que desde cierto punto

de vista presentan la forma de la letra “D”. Poseen una doble membrana y su tamaño es de aproximadamente 50 micras de longitud por 25 de ancho (Botero y Restrepo, 2003).

Enterobius vermicularis es un parásito exclusivamente humano, cuya forma adulta vive en el intestino alimentándose de células epiteliales y bacterias. La infección por este parásito es conocida como enterobiasis u oxiuriasis. Rara vez causa daño a su huésped excepto por una picazón más bien severa y estresante en la zona perineal. No existen lesiones anatomopatológicas producidas por *Enterobius vermicularis*. Por ser un parásito exclusivamente humano se puede sostener que cualquier material orgánico que contenga huevos de *E. vermicularis* probablemente sea de origen humano.

La infección por *Enterobius vermicularis* se presenta en la actualidad en todos los climas y en todas las condiciones sociales. Entre los esquimales, por ejemplo, a pesar de lo extremo de sus condiciones de vida, se han informado prevalencias de hasta un 60% (Botero y Restrepo, 2003). Los blancos presentarían esta infección con mayor frecuencia que los negros (Chandler 1955; Brown y Belding, 1965). Actualmente, tiene la distribución geográfica más amplia de todos los helmintos, lo que se debe a su estrecha asociación con el ser humano (Brown y Belding, 1965). Algunos cálculos estiman que habría más de 200 millones de personas infectadas en el mundo. Aunque el parásito prevalece en grupos económicamente deficitarios, instituciones para niños y enfermos mentales, no es en absoluto extraño a comunidades bien dotadas. Y a diferencia del resto de los helmintos, *Enterobius* es relativamente raro en los países tropicales. La infección por este parásito es más frecuente en niños debido a que éstos habitualmente presentan un mayor y más estrecho contacto interpersonal y además tienen menos desarrollados los hábitos higiénicos, todo lo cual incrementa el riesgo de transmisión. Hacia mediados del siglo XX, el 60% de los niños chilenos en edad escolar estaban infectados con este parásito (Chandler, 1955).

6.3.2. Ciclo Biológico

El ciclo de vida de este helminto es muy particular. *Enterobius vermicularis* no requiere huésped intermediario ni prolongada incubación exógena para completar su ciclo vital. Los parásitos adultos viven en el intestino grueso y tienen una corta longevidad, generalmente de 3 meses en el caso de la hembra, mientras que el parásito macho muere después de la cópula y es eliminado con las materias fecales. Después de cada apareamiento, las hembras producen aproximadamente 10.000 a 11.000 huevos (Botero y Restrepo, 2003; Chandler, 1955). En ese momento, las hembras migran desde el cecum, apéndice y partes adyacentes del intestino, hacia el recto, abandonando el intestino del huésped y saliendo a través del ano a depositar sus huevos al exterior, en la región perineal. Si la hembra deja todos sus huevos en el exterior, muere. De lo contrario vuelve a introducirse por el ano para salir posteriormente a dejar el resto de sus huevos. No se conoce la razón por la cual se produce esta migración hacia el exterior, pero se sospecha que se debe a un requerimiento de oxígeno (Botero y Restrepo 2003). Las condiciones aeróbicas y de temperatura de la región perianal estimularían la expulsión de los huevos (Brown y Belding, 1965). Este proceso ocurre principalmente de noche.

Los huevos son infectantes poco después de abandonar el útero de la hembra, cuando se forma la larva, no requiriendo pasar por una etapa en el suelo ni por un periodo de incubación externa. Los huevos depositados, adheridos a la piel o a la ropa, o al caer y juntarse con el polvo, pueden permanecer infectantes por varias semanas si existen las condiciones de humedad adecuadas. Sin embargo, la desecación los mata rápidamente. Los huevos pueden sobrevivir de 2 a 6 días bajo condiciones de frío y humedad, pero su supervivencia en un ambiente seco con temperaturas sobre los 25° C se ve muy disminuida, y muy pocos sobreviven luego de 12 horas (Chandler, 1955).

El modo de infección de *E. vermicularis* es a través de la ingestión del huevo. La forma más común de que los huevos lleguen a la boca es por las manos. Al rascarse, los huevos

adheridos a la piel se acumulan bajo las uñas, donde permanecen, pudiendo reinfectar al mismo huésped o pasar a otros. También se ha señalado al polvo como una posible fuente de infección, a través de la inhalación de los huevos y posterior deglución (Botero y Restrepo, 20003). Se sobreentiende entonces que para que se produzca la transmisión horizontal entre huéspedes humanos debe haber, en primer lugar, condiciones relativamente deficientes de higiene y luego, un contacto bastante íntimo. También puede deducirse de este modo de transmisión que la reproducción de la infrapoblación de *Enterobius vermicularis* ocurrirá principalmente como una re infección del mismo huésped por parte de las sucesivas generaciones del parásito y a través de la transmisión de éste a los otros miembros de la familia, que son los individuos con que se comparte el espacio más próximo y con los que se tiene el contacto más estrecho. Efectivamente, se ha comprobado que la infección se disemina principalmente en grupos de personas que viven en el mismo domicilio. En familias con varios miembros infectados se ha encontrado que un 92% de las muestra de polvo recogidas presentan huevos de *Enterobius*, encontrándose el mayor número en los dormitorios (Brown y Belding, 1965). También puede producirse retroinfección a través del ano, cuando los huevos se abren en la región perianal, originando larvas que migran hacia arriba, a lo largo del intestino grueso (Brown y Belding, 1965).

Después de ingerido el huevo embrionado, la larva se libera en el intestino delgado, particularmente en el duodeno, desde donde pasa al intestino grueso para desarrollar su vida adulta. Los parásitos adultos viven principalmente en la región ileocecal. En el intestino, los oxiuros se adhieren a la pared por medio de sus labios o sosteniéndose ayudados por unas especies de aletas que presentan en su parte anterior y, a diferencia de otros helmintos intestinales, son incapaces de herir o penetrar la mucosa. El ciclo completo de *Enterobius vermicularis* dura de 2 a 4 semanas.

El particular ciclo de vida de *E. vermicularis* plantea una diferencia sustancial con otros helmintos intestinales que es de tener en cuenta para el estudio paleoparasitológico,

enfocados fuertemente sobre el análisis de coprolitos: Los huevos no abandonan el cuerpo del huésped con las materias fecales. En pacientes con la infección se ha determinado que sólo en aproximadamente un 5% se encuentran los huevos de *E. vermicularis* en sus heces (Botero y Restrepo, 2003; Horne, 1985), lo cual quiere decir que en un 95% de los individuos infectados no hay evidencia de la parasitosis en sus materias fecales, y en lo que respecta al análisis de coprolitos, que si sólo se confía en éste, el diagnóstico de infección en una población siempre estará ampliamente subestimado. De encontrar huevos de *E. vermicularis* en sólo unas pocas muestras fecales provenientes de un sitio arqueológico dado, se puede inferir una tasa de infección relativamente alta en un grupo o población.

6.4. *Trichostrongylus spp.*

6.4.1. Generalidades

Trichostrongylus es un género perteneciente a la superfamilia *Trichostrongyloidea* (Phylum Nematoda), helmintos similares a los anquilostomas, que comprende más de 35 especies que parasitan a diversos animales, principalmente a mamíferos herbívoros, particularmente a rumiantes, así como también a aves, y que ocasionalmente infectan al ser humano. Varias de estas especies se ha comprobado que pueden infectarlo, como *T. axei*, *T. vitrinus*, *T. capricola*, *T. colubriformis* y *T. orientales*, muy común en Asia. En algunas regiones de Asia y África la infección por parásitos de este género es muy frecuente, llegando a un prevalencia de sobre el 70% en zonas endémicas del sudoeste de Irán (Gonçalves et al., 2003).

Los ejemplares adultos de *Trichostrongylus* miden entre 4 mm y 1 cm de longitud y son muy delgados. Sus huevos son muy similares a los de anquilostoma, aunque son más largos, alcanzando aproximadamente 100 micras, y puntiagudos en un extremo. Las

infecciones son generalmente tan ligeras que no producen síntomas. La mayoría de las variedades de *Trichostrongylus* son hematófagas, pero en los casos humanos descritos por lo general no se presenta anemia intensa. Otros síntomas que puede provocar la infección son muy inespecíficos. Una infección intensa puede causar anemia y, a veces, colecistitis. Se ha descrito que animales con cargas infecciosas muy elevadas de *Trichostrongylus* pueden morir después de varias semanas (Chandler, 1955).

Estos helmintos presentan una distribución más o menos cosmopolita en el hombre, encontrándose en África, Asia Menor, Japón, Indonesia, Australia y rara vez en Estados Unidos (Brown y Belding, 1965). En Sudamérica, la infección por *Trichostrongylus*, si bien es de gran importancia veterinaria, tiene poca importancia para el ser humano, reportándose muy pocos casos.

6.4.2. Ciclo Biológico

Los parásitos adultos viven adosados a la parte alta de la mucosa del intestino delgado. En el ser humano habitan en el yeyuno e íleon distal, y en ocasiones pueden invadir las vías biliares. Los huevos que producen abandonan el cuerpo del huésped con las deposiciones fecales. En ese momento aun no se ha formado el embrión y el estado del huevo es de mórula. Para su desarrollo extracorporal requieren de una temperatura templada y elevada humedad. En el suelo los huevos embrionan y liberan las larvas, las que permanecen en el medio ambiente, de preferencia en la hierba, hasta que son ingeridas por los animales que son sus huéspedes definitivos, generalmente herbívoros. Al ser deglutidas, llegan al intestino delgado, donde se adhieren a las paredes y se desarrollan hasta su forma adulta en un periodo de unos 21 días (Brown y Belding, 1965), sin hacer ciclo pulmonar como *Ancylostoma sp.*

6.5. *Paragonimus spp.*

6.5.1. Generalidades

Los tremátodos del género *Paragonimus* son parásitos carnosos, muy móviles, de color café rojizo y de forma ovalada, con un tamaño de 1 a 2 cm en su diámetro mayor y con el cuerpo cubierto por pequeñas espinas en forma de escamas. Los huevos de *Paragonimus* son operculados, de color café y miden aproximadamente 80 por 50 micras (Botero y Restrepo, 2003). Más de 40 especies del género han sido descritas en el mundo. Nueve de ellas existen en América (Vélez et al., 2003). Más de 30 de estas especies parasitan al ser humano (Aufderheide y Rodríguez-Martín, 1998). La OMS ha estimado que alrededor de 20 millones de personas están infectadas actualmente por este helminto en el mundo (Intapan et al., 2005), la mayor parte de las cuales se encuentra en Asia, donde predomina la especie *P. westermani*.

En Sudamérica se han reportado infecciones humanas por parte de las especies *P. mexicanus*, *P. peruvianus*, *P. ecuadorensis* y una especie venezolana de *Paragonimus sp.* (Vélez, 2003). La distribución actual de las variedades de *Paragonimus* sitúa a *P. westermani* predominando en Asia, mientras que *P. mexicanus* es responsable de la mayoría de las infecciones en seres humanos en Sudamérica. Otra variedad descrita en América es *P. kellicotti*, que predomina en animales y en escasas ocasiones pasa al ser humano. Respecto a *P. mexicanus*, *P. peruvianus* y *P. ecuadoriensis*, existe controversia. Algunos autores han sostenido que se trataría de la misma especie debido a la similitud de sus huevos y de la evolución de sus ciclos de vida (Botero y Restrepo, 2003; Vélez, 2003).

La infección por *Paragonimus sp.* produce una enfermedad llamada paragonimiasis o distomatosis pulmonar. *Paragonimus* no provoca lesiones esqueléticas. La patología inicialmente se debe a abscesos y pequeñas hemorragias que origina el paso de las larvas

por los tejidos en su desplazamiento hasta su localización definitiva. El parásito adulto, en primer lugar, causa lesiones de tipo inflamatorio en el órgano en que se desarrolla. Luego forma quistes fibrosos rodeados de material necrótico. Esto ocurre principalmente en los pulmones, provocando tos y expectoración, desarrollándose una sintomatología similar a la tuberculosis (incluso se asemeja radiológicamente), con la diferencia de que los infectados por *Paragonimus* conservan su estado de salud general, mientras que los afectados por *Mycobacterium tuberculosis*, se deterioran marcadamente. Los quistes pulmonares, de 1 o 2 cm de diámetro, deberían poder ser reconocidos mediante el examen metódico de pulmones humanos momificados, especialmente considerando que la forma crónica de la infección frecuentemente involucra una calcificación cuando menos parcial de algunas lesiones. En personas infestadas severamente, el parásito puede llegar a los riñones, hígado y otras localizaciones extrapulmonares, la más desastrosa de las cuales es el cerebro, que es a la vez la más frecuente después del pulmón (0.8% de los casos de paragonimiasis pulmonar tienen a la vez localización cerebral). Ésta se presenta como una enfermedad grave de tipo tumoral, que produce convulsiones, trastornos visuales y otros síntomas (Botero y Restrepo, 2003).

6.5.2. Ciclo Biológico

Los huéspedes definitivos de *Paragonimus sp.* son mamíferos domésticos y salvajes: perros, cerdos, gatos, carnívoros salvajes y el ser humano, en los cuales la forma adulta del tremátodo reside enquistada usualmente en el pulmón. El parásito completa su ciclo de vida en dos huéspedes intermediarios, un caracol acuático y un crustáceo.

En las Américas, el primer huésped intermediario de *Paragonimus spp.* son pequeños caracoles de las familias Pomatiopsidae (e.g. *Pomatiopsis lapidaria*, para *Paragonimus kelliotti*) e Hydrobiidae (e.g. *Aroapyrgus costaricensis* y *A. alleei*, para *P. mexicanus*, y *Aroapyrgus colombiensis* para *P. caliensis*, *P. peruvianus* y *P. ecuadoriensis*; Vélez et al., 2003). El segundo huésped intermediario incluye especies pequeñas de crustáceos.

El mamífero huésped definitivo se infecta al consumir estos crustáceos crudos o mal cocidos.

El foco natural de la paragonimiasis se localiza en las regiones tropicales y subtropicales. Los hábitat donde se desarrollan los ciclos bióticos de este parásito incluyen riachuelos rocosos y pequeñas bahías que presentan comunidades de macroinvertebrados, donde deben estar incluidas las especies señaladas de huéspedes intermediarios que requiere su complejo ciclo.

La localización de los parásitos adultos es, como se ha dicho, principalmente en el pulmón, donde viven por parejas formando quistes. Los huevos que producen caen a los bronquiolos desde donde llegan a la laringe, pudiendo ser eliminados por expectoración o ser deglutidos para abandonar el cuerpo del huésped por medio de las materias fecales. Los huevos deben alcanzar el agua dulce para embrionar. El desarrollo de los embriones tarda aproximadamente unas 3 semanas a una temperatura óptima de 27° C (Brown y Belding, 1965). En el agua, el embrión miracidio emerge y nada libremente, para pasar luego por sus huéspedes intermediarios, lo que debe ocurrir en un lapso de 24 horas o de lo contrario muere. En el caracol que actúa como primer huésped, el miracidio se reproduce de forma asexual pasando por las etapas de esporoquiste, redias y cercarias. Esta última forma del helminto nada libre en el agua (con un tiempo de sobrevivencia que va de 24 a 48 horas) hasta encontrar al segundo huésped intermediario, que es un crustáceo, usualmente un cangrejo, donde se enquistas. La ingestión de este animal crudo o mal cocido causa la infección en los huéspedes definitivos, desarrollándose una metacercaria en el intestino. Esta forma del parásito penetra la pared duodenal hasta la cavidad abdominal, y cruzando la cavidad peritoneal, diafragma y pleura, alcanza los pulmones en unos 20 días, donde se enquistas para alcanzar su forma adulta y reproducirse en un lapso de tiempo de unas 5 a 6 semanas, reiniciándose el ciclo.

6.6. *Diphyllobothrium spp.*

6.6.1. Generalidades

Diphyllobothrium latum es un Platyhelmintho de la clase Cestoda, siendo la especie de su género que infecta con más frecuencia al hombre, aunque existen otras variedades como *D. pacificum* y *D. dendriticum*, que también pueden afectar al ser humano. Todas se adquieren de peces, tanto marinos como de agua dulce. *Diphyllobothrium latum* es más frecuente en el hemisferio norte, comúnmente asociado a zonas lacustres y circumpolares en Norteamérica y Europa, siendo endémico en países como Finlandia y Escandinavia. *Diphyllobothrium pacificum* es la especie que se encuentra con mayor frecuencia en Sudamérica, en la costa pacífica (Gonçalves et al., 2003), y a la que se adscriben los registros paleoparasitológicos en Chile.

La infección provocada por este helminto es conocida como botriocefalosis, difilobotriasis o anemia por botriocéfalos. *Diphyllobothrium latum* es un gusano que en su adultez mide de 3 a 10 metros de longitud, compuesto de varios miles de proglótides, siendo la tenia de mayor tamaño que parasita al hombre. Su ésclex, el órgano de fijación o “cabeza”, es de 2 mm de largo por 1 mm de ancho, y presenta dos ventosas longitudinales llamadas botria, un cuello largo y delgado y la estrobila, que es el conjunto de proglótides de un céstodo. Cada proglótide contiene los órganos reproductores masculinos y femeninos (el gusano es hermafrodita) en su parte central y presenta un poro genital por donde elimina los huevos. Los huevos de *D. latum* son ovalados, de un tamaño de 70 por 45 micras, y poseen un opérculo o tapa en uno de sus extremos, la que se abre para permitir la salida del embrión.

Diphyllobothrium pacificum se caracteriza por presentar botria oblicuas y un cuello corto y menos delgado, y en que sus huevos son más pequeños que los de *D. latum*. Los huevos de *D. pacificum* son operculados y pueden asemejarse a los de una variedad de

otros céstodos, como *Spirometra mansoni*, y tremátodos como los del género *Nanophyetus* (Reinhard y Urban, 2003).

La infección humana con *D. pacificum* y *D. latum* es el resultado de la ingestión de peces crudos o poco cocidos, marinos y de agua dulce, respectivamente. Por esto, las prácticas prehistóricas relativas a la dieta deben tenerse en cuenta. En algunas culturas resulta habitual el consumo de peces crudos, lo que es una fuente más que probable de infección cuando el parásito es endémico, pero también puede ocurrir que la dieta incluya pequeños animales enteros, incluyendo el contenido de su tracto digestivo, lo que puede acarrear que las heces humanas estén contaminadas con huevos que no fueron infectantes para el ser humano, produciéndose el fenómeno de falso parasitismo. Por esto, como en el caso de otros helmintos con ciclos complejos, como *Paragonimus*, se deben buscar en los coprolitos rastros de la dieta que permitan descartar o confirmar un falso parasitismo. En el caso de *Diphyllobothrium* sería relevante hallar restos no carbonizados de peces.

Un ejemplo interesante de una práctica cultural contemporánea que ha beneficiado la prevalencia de *D. latum* en algunas regiones, es la preparación por parte de las amas de casa judías de pescado Gefüllte (una especie de albóndiga), las que van probando la preparación en la medida en que le agregan condimentos, adquiriendo de ese modo la infección; su familia, en tanto, que recibe el platillo ya cocido, permanece libre del parásito (Brown y Belding, 1965).

La infección por *Diphyllobothrium* es con frecuencia asintomática o causa síntomas inespecíficos, como náusea, diarrea y debilidad (Horne, 1985). Este helminto no produce por lo general lesiones en la mucosa intestinal. Una forma de patogenicidad que se puede desarrollar en un pequeño porcentaje en los individuos infectados por *Diphyllobothrium* es la anemia megaloblástica, producto de la utilización que hace el parásito de parte de la vitamina B12 del huésped (Botero y Restrepo, 2003).

6.6.2. Ciclo Biológico

Los huéspedes definitivos de *Diphyllobothrium* son los humanos y varios otros mamíferos, en los cuales el gusano adulto se localiza en el intestino delgado, fijo a la mucosa a través de sus botria. Al ser ingerida la larva, por medio del consumo de peces crudos o mal cocidos, ésta se adhiere a la pared intestinal y crece al ritmo de hasta 30 proglótides por día, llegando a su madurez luego de 3 a 5 semanas (Brown y Belding, 1965). El hábitat de la tenia adulta es el íleon y a veces el yeyuno. Vive durante muchos años, alcanzando incluso a superar los 20 según Brown y Belding (1965). La autofecundación hermafrodita es la regla, pudiendo producirse fecundación cruzada entre los segmentos. El útero distendido de los proglótidos grávidos descarga diariamente huevos hacia el intestino, y un solo gusano puede producir hasta 36.000 huevos en un día (Chandler, 1955). Los huevos son eliminados junto a las materias fecales del huésped, los que luego de caer al agua, maduran de 9 a 12 días antes de liberar el primer estado larvario (Brown y Belding, 1965; Botero y Restrepo, 2003). He aquí la primera condición indispensable para el desarrollo del ciclo de este parásito: las materias fecales de sus huéspedes deben ser depositadas en fuentes de agua o llegar de algún modo a ellas.

Diphyllobothrium sp. tiene dos huéspedes intermediarios, un crustáceo y peces. El coracidio o primer estado larvario nada libremente por medio de cilias hasta que es ingerido por un crustáceo muy pequeño de los géneros *Cyclops* o *Diaptomus*, que corresponde al primer huésped intermediario. Es indispensable, por lo tanto, que en el medio estén representados estos crustáceos para que el complejo ciclo de *Diphyllobothrium* pueda completarse. En el crustáceo se desarrolla el segundo estado larvario o procercoide, infectante para determinados peces al ingerir a los crustáceos infestados. Estos peces actúan como segundos huéspedes intermediarios y en ellos se desarrolla un tercer estado larvario, plerocercoide, forma infectante para el huésped definitivo al consumir la carne cruda o mal cocida de los peces infestados.

A diferencia de *Diphyllobothrium pacificum*, *D. latum* tiene un ciclo que se desarrolla completamente en agua dulce, involucrando a crustáceos, peces de pequeño tamaño y depredadores mayores de estos peces. La costumbre de comer pescados crudos o mal cocidos es la forma común de infección. El ser humano se ha transformado en huésped definitivo de *Diphyllobothrium sp.* de manera accidental debido su acceso a nuevos entornos costeros, lacustres y fluviales y a las conductas respecto al consumo de los alimentos. El ciclo de *D. pacificum* normalmente se desarrolla entre peces marinos y el león o lobo marino, como su huésped definitivo. Los humanos adquieren la infección al consumir peces crudos con quistes vivos del parásito, pero no al consumir la carne o las vísceras del león marino.

6.7. *Hymenolepis nana*.

6.7.1. Generalidades

Hymenolepis nana, también denominado *Rodentolepis nana* y *Vampirolepis nana*, es el céstodo de huésped humano más pequeño que existe, con un tamaño de 2 a 4 cm. Su escólex posee 4 ventosas y una corona de ganchos. La estróbila puede estar formada por hasta 200 proglótides más anchas que largas. Los órganos reproductores contenidos en cada proglótide desembocan en un poro genital lateral por donde salen los huevos. Éstos son redondeados, con un diámetro de 40 a 50 micras, blancos y traslúcidos y presentan una membrana doble y filamentos que salen de los polos de la membrana interior. Al interior del huevo se halla la oncósfera provista de tres pares de ganchos (Botero y Restrepo, 2003).

Se estima que más de 20 millones de personas están infectadas por algún parásito del género *Hymenolepis*. La infección está principalmente circunscrita a niños menores de

15 años. La frecuencia se incrementa después de los 2 y disminuye después de los 8 años, para aumentar ligeramente en la adolescencia. En los negros, la frecuencia de esta infección es aproximadamente la mitad que en los blancos. (Brown y Belding, 1965). La infección por *H. nana* produce síntomas inespecíficos como cefalea, dolor abdominal, vómitos, náuseas y diarrea. Una infección ligera no ocasiona síntomas o sólo produce trastornos abdominales vagos. Una infección severa, sin embargo, puede provocar además de los síntomas descritos, anemia aplásica secundaria y eosinofilia (Brown y Belding, 1965).

6.7.2. Ciclo Biológico

Hymenolepis spp. requiere, para completar su ciclo de vida, de la intervención de un insecto, como huésped intermediario, y de un roedor como huésped definitivo. *H. nana* es único en su género, ya que puede completar todo su ciclo de vida en el intestino de un solo huésped (Ito, 1997). Los huéspedes definitivos naturales de *H. nana* son ratas, ratones y el ser humano.

La transmisión ocurre por contacto directo entre los huéspedes definitivos, debido a que los huevos son pocos resistentes, siendo susceptibles al calor y a la desecación. De esta forma, el modo de transmisión principal entre los seres humanos es de mano a boca, y con menor frecuencia debido al agua y alimentos contaminados.

Los parásitos adultos habitan el intestino delgado de su huésped definitivo, particularmente los dos tercios superiores del íleon. Sus huevos abandonan el cuerpo del huésped a través de las materias fecales. Al salir al ambiente son inmediatamente infectantes. La infección humana se produce por ingestión de los huevos embrionados. La transmisión es horizontal y se realiza por contacto mano – boca y a través de alimentos y bebidas contaminadas. Existe un ciclo alternativo donde la infección puede

producirse por consumo de insectos infectados actuando como huéspedes intermediarios.

En el intestino delgado los huevos eclosionan y dejan libre a un embrión hexacanto, el cual penetra la mucosa intestinal para formar, en unos 4 días, una larva denominada cisticercoide. Al completar su desarrollo esta larva se libera, retornando a la luz del intestino y fijándose a la pared para desarrollarse en alrededor de 10 días hasta la forma adulta del parásito, la que se fija por medio de su escólex a la mucosa. El ciclo completo, desde la ingestión del huevo embrionado hasta que el helminto alcanza su estado adulto y es capaz de producir nuevos huevos mediante reproducción sexual hermafrodita, es de alrededor de 3 semanas, y los parásitos adultos tienen una longevidad de varias semanas (Brown y Belding, 1965; Botero y Restrepo 2003). En ocasiones es posible que se produzcan autoinfecciones internas, lo que puede provocar infecciones masivas en un organismo (Brown y Belding, 1965).

7. POBLAMIENTO DE AMÉRICA Y EL ORIGEN DE LOS HELMINTOS DEL REGISTRO ARQUEOLÓGICO CHILENO

7.1. INTRODUCCIÓN

De los parásitos mencionados previamente y considerando los objetivos planteados en este estudio, resulta evidente que los más interesantes son aquellos cuyo huésped es exclusivamente el ser humano. Su especificidad nos posibilitaría, en teoría, rastrear sus rutas migratorias con mayor grado de certeza. En principio, conociendo las características biológicas de estas especies, su análisis en el contexto del poblamiento americano entregaría pistas sobre las posibles rutas migratorias de sus huéspedes humanos. Para determinar los posibles orígenes, descartar o poner en duda la presencia de determinadas especies en zonas dadas y para apoyar o descartar algunas hipótesis sobre la colonización de determinadas regiones a partir de la evidencia paleoparasitológica es, por un lado, indispensable conocer en detalle los ciclos biológicos de los parásitos y su presencia en los registros arqueológicos y, por otra parte, contar con una visión general de las posibles rutas migratorias humanas que otros datos, principalmente los aportados por la arqueología y la antropología física, han permitido postular, para situar en esos contextos las evidencias que los parásitos pueden aportar. En el presente capítulo haremos un breve repaso de la discusión en torno al tema del poblamiento temprano de América y analizaremos los posibles orígenes de cada uno de los parásitos que ya hemos descrito.

7.2. BREVE SUMARIO DE LA DISCUSIÓN EN TORNO AL POBLAMIENTO TEMPRANO DE AMÉRICA

La o las rutas de colonización que el ser humano siguió para poblar el continente de América han sido un permanente tema de debate con antecedentes que provienen de las más diversas áreas de las ciencias. Los investigadores buscan dilucidar cuando hicieron su arribo los primeros pobladores de América, cuantas expansiones poblacionales o migraciones estuvieron involucradas en la colonización del continente y de qué parte de Asia o Eurasia (o de otras regiones del mundo) provinieron estos grupos. Los datos auxiliares en la resolución de estos viejos enigmas son indispensables para la reconstrucción de esta historia. Es así como evidencias importantes en esta área de investigación han sido provistas por disciplinas tan dispares como la lingüística, la biología molecular, la antropología física y la arqueología, y por muchas otras disciplinas auxiliares.

La idea de que los primeros pobladores americanos migraron de alguna forma desde Siberia miles de años atrás la propuso por primera vez José de Acosta, un misionero jesuita, en 1589 (Gonçalvez et al., 2002). Desde entonces se sucedieron un sinnúmero de hipótesis respecto a los pormenores de ese movimiento poblacional, lo que llegó a ser un dogma a partir del modelo conocido como *Clovis First*. Con este modelo, durante mucho tiempo el problema del poblamiento americano pareció estar resuelto para la arqueología. Los textos reprodujeron por décadas lo que se consideraba la alternativa más abalada, la que era hasta hace relativamente poco la explicación preponderante para la colonización de América. De acuerdo con el modelo de “Clovis primero”, las poblaciones humanas ingresaron al continente por primera vez hace alrededor de 12.900 años antes del presente, después del último máximo glacial (LGM, por sus siglas en inglés), desarrollado entre hace 24.000 y 13.050 años AP (Schurr, 2004), hacia el final de la glaciación Wisconsin, la última del Pleistoceno en Norteamérica. La migración desde Asia hacia América se habría desarrollado a través de un puente de tierra entre el

Noreste de Asia y el Noroeste de Alaska, situado en una zona que actualmente se encuentra cubierta por el mar, en el estrecho de Bering. Esta ruta habría sido tomada por grupos de humanos anatómicamente modernos provenientes de algún lugar en Asia, presuntamente siguiendo la migración de las grandes presas, para luego seguir avanzando por un corredor libre de hielo que habría permitido el paso entre el Noroeste de Norteamérica y el interior del continente, centro desde el cual se habría producido la expansión hacia el resto del territorio americano. Estos primeros migrantes habrían constituido parte de una tradición cultural caracterizada por el empleo de largas puntas bifaciales presuntamente desarrolladas para la caza de grandes mamíferos terrestres, como el mastodonte. Siguiendo a Dixon (2001), este primer flujo migracional estaría formado por los ancestros de los complejos arqueológicos Clovis y Nenana, enmarcándose su ingreso al continente antes del 11.500 AP. y posiblemente en algún momento tan antiguo o previo a 13.500 AP. Este evento habría sido seguido por un segundo flujo de colonización correspondiente a los representantes de la tradición Americana Paleoártica, los que situarían su ingreso al continente circa el 10.500 AP. Uno de los rasgos distintivos de la primera oleada es la introducción del *atlatl*, mientras que la segunda migración se caracteriza por la introducción del arco y la flecha.

Los datos bioantropológicos, particularmente los restos óseos humanos, muy limitados para momentos tan tempranos, también informarían, según Dixon (2001) de dos grupos humanos distintivos como migrantes originarios del continente. Steele y Powell (1992) concluyen que las características craneales y faciales de las poblaciones americanas conocidas previo al 8.500 AP permiten diferenciar claramente a esas poblaciones de los americanos nativos posteriores. Los restos americanos más tempranos tienden a mostrar características craniofaciales que son similares a las de poblaciones del sur de Asia y europeas. Estos grupos habrían precedido a una segunda oleada de seres humanos con características craniofaciales semejantes a las de grupos contemporáneos del norte de Asia. A pesar de la posibilidad de explicar estas diferencias aludiendo a rápidos cambios adaptativos, lo más plausible es que representen dos poblaciones distintas.

Existen otros modelos que apuntan a un número diferente de eventos de colonización y a orígenes geográficos particulares de las poblaciones migrantes. Por ejemplo, Turner (2002, en Dillehey, 2003) propone actualmente que la colonización de América se produjo en tres oleadas a partir de ca. 12.000 AP, modelo que basa en el reconocimiento de tres subdivisiones en el patrón dental conocido como Sinodonte, que es la conformación preponderante entre las poblaciones nativas de América.

Los datos moleculares, particularmente los que se han desprendido del análisis de marcadores en el DNA mitocondrial, si bien han contribuido enormemente al debate, no han permitido aun la producción de hipótesis unívocas respecto al poblamiento americano temprano. Los haplogrupos mitocondriales son el marcador por excelencia en este contexto. A partir de ellos se ha propuesto, respecto al número de migraciones, que los haplogrupos A, B, C y D representarían un único evento de colonización, punto de vista sustentado en dos factores: por un lado, el hecho de que los cuatro haplogrupos están distribuidos a lo largo de todo el continente en una gradiente dada (cuyas características y significado no están exentos de debate, eg. Hamilton y Buchanan, 2007); adicionalmente a esto, se ha señalado a partir de análisis estadísticos, que existen niveles similares de diversidad en todos los linajes mitocondriales (Bonatto y Salzano, 1997). Recientemente se ha descrito una diversidad genética superior a la reportada con anterioridad dentro de los linajes fundadores (Tamm et al., 2007), sin embargo la idea de una sola oleada migratoria se ha mantenido y la nueva estructura filogenética ha sido explicada como el producto de una “pausa” de los seres humanos en su trayecto por Beringia, tiempo durante el cual los linajes del Nuevo Mundo se habrían diferenciado de sus pares asiáticos. Esta “pausa en movimiento” habría sido sucedida por una migración rápida en dirección sur que distribuiría finalmente los tipos fundadores por todo el continente (Tamm et al., 2007; Kitchen et al., 2008).

Así, la mayor parte de los estudios en este ámbito desarrollados a partir de herramientas genéticas dan soporte a una migración paleoindia única al Nuevo Mundo de un población del este de Asia. La reducida variación y la distribución ubicua de los haplogrupos mitocondriales y del cromosoma Y y la diversidad de los microsatélites dentro de América en relación con Asia constituyen un fuerte argumento en favor de la migración única (Wang et al., 2007; Kitchen et al., 2008). No obstante, otros investigadores han propuesto que estos haplogrupos representan la evidencia de dos oleadas migratorias diferentes. En este modelo los haplogrupos mitocondriales A, C y D habrían formado parte de un primer evento de colonización, mientras que la presencia del haplogrupo B estaría explicada por una migración posterior independiente, lo que estaría sustentado en que este último haplogrupo parecería ser más joven que los otros linajes fundadores (Schurr, 2004). El haplogrupo X, por otra parte, parece representar claramente una migración diferente, apareciendo con altas frecuencias sólo en poblaciones amerindias de Norteamérica, sobre todo en torno a la zona de los Grandes Lagos (Malhi et al., 2002). Respecto al origen de las poblaciones americanas, Merriwether et al. (1996, en Dixon, 2001), basándose en el análisis del DNA mitocondrial de nativos mongoles, proponen a Mongolia como el punto de origen más probable para los primeros humanos del Nuevo Mundo. Un resultado comparable que sustenta dicha idea es el que obtiene un estudio enfocado en discriminar la presencia del retrovirus HTLV-II en diferentes grupos étnicos asiáticos y tribus amerindias (Neel et al., 1994).

Respecto al tiempo inicial de ingreso al continente, las estimaciones realizadas a partir de la diversidad en el DNA mitocondrial y sus tasas de evolución, abarcan un amplio rango de fechas, desde los 11.000 a los 43.000 años AP (Schurr, 2004; Bonatto and Salzano 1997; Tamm et al., 2007), aunque estimaciones más recientes hablarían de un rango más acotado, de 20.000 a 15.000 años AP (Schurr y Sherry, 2004, en Tamm et al., 2007).

Existen otras líneas de investigación y evidencias que han sido contempladas en la investigación del poblamiento inicial de América, por ejemplo las relaciones lingüísticas entre diferentes grupos o las distancias que se establecen a partir de los marcadores no recombinantes en el cromosoma Y, que presentan una herencia patrilineal (Karafet et al., 1997), sin embargo este no es el lugar para hacer un compendio minucioso de todas las propuestas en curso en este sentido. Lo definitivo es que en general los datos arqueológicos, bioantropológicos, moleculares y geológicos más recientes han puesto al modelo de Clovis *primero* en cuestión. Varios sitios norteamericanos han sido datados entre el 16.000 y el 14.250 AP, lo que los hace más antiguos que aquellos asociados con la tradición Clovis lítica (12.900 – 12.550 AP). Por otro lado, de forma más concluyente incluso, un creciente número de sitios en Sudamérica se han fechado en épocas al menos tan tempranas como las que corresponden a dicha tradición, y presentan una artefactualidad que parece no corresponderse con la cultura material que caracterizaría a la gente Clovis.

La evidencia geológica actual indica que el corredor libre de hielo que conducía hacia el centro del subcontinente estuvo cerrado entre hace alrededor de 24.000 años AP y 14.000 a 13.500 años AP (Montenegro et al., 2006). Estos datos indican que la ruta que culminó con las ocupaciones más tempranas conocidas en América no pudo ser aquella. Como se ha indicado, actualmente se acepta que algunas poblaciones humanas habían conseguido abrirse paso hasta el extremo sur de América en épocas tan tempranas como 14.700 AP (Dillehay, 1997, en Dixon 2001). La existencia de sitios arqueológicos como Monte Verde, en Chile, implica que los primeros pobladores de América hicieron su arribo al territorio al menos antes del 13.000 AP, y en consecuencia se instalaron en el continente antes de que emergiera la tradición lítica Clovis en Norteamérica (*Ibid*).

Estas inconsistencias producidas por la aparición y el estudio de nuevos sitios y el avance en las técnicas de investigación y análisis en arqueología y disciplinas auxiliares

han provocado un renovado interés en las teorías alternativas para el poblamiento de América.

Una tesis alternativa es la hipótesis que vincula a las poblaciones Clovis con el complejo Solutrense europeo. Esta hipótesis implica la existencia de una ruta atlántica para el desplazamiento de los seres humanos y se basa en ciertas similitudes entre los artefactos del complejo Clovis en Norteamérica y los del periodo Solutrense (26.500 – 19.500 AP) de cazadores marítimos y pescadores en Europa. Los críticos de esta hipótesis señalan las diferencias formales entre los complejos Clovis y el complejo Solutrense, y sobre todo al hecho de que el registro arqueológico establece una distancia de por lo menos 5.000 años radiocarbónicos entre las últimas evidencias Solutrenses y las más tempranas Clovis (Montenegro et al., 2006). Lo cierto es que, como señalan Straus, Meltzer y Goebel (2005): “The origin and arrival time of the first Americans remain uncertain, but not so uncertain that we need to look elsewhere other than north-east Asia.”

Una de las propuestas alternativas a Clovis *primero* más abaladas es la hipótesis de “migración costera”, en sus diferentes variantes. La idea de una migración a través de la costa se viene postulando a partir de la década de 1960, pero actualmente las evidencias han mejorado la calidad de estas propuestas. Dixon propone un modelo en el que estima que la colonización inicial de América se produjo a través del uso de una tecnología de desplazamiento marítimo hace unos 13.500 años. Esta hipótesis se basa en varias fuentes de evidencia. En primer lugar, la ruta más tempranamente deglaciada para el ingreso a Norteamérica fue la costa. La cronología establecida para las glaciaciones en Norte América indica límites máximos y mínimos para la colonización humana de dicho subcontinente. Antes de la década de 1970, se había asumido que el cordón cordillerano de hielo se extendía hacia el oeste hasta los márgenes del continente creando una barrera para la migración humana, pero los estudios geológicos y paleoecológicos más recientes documentan la deglaciación y la existencia de corredores libres de hielo a través de la

mayoría de las áreas costeras de la Columbia Británica desde circa 13.000 AP. La deglaciación en la costa Noroeste del continente estaba suficientemente avanzada hacia el 13.000 AP para permitir asentamientos humanos, pero la ruta interior desde el puente de Bering al centro del continente pudo estar cubierta por glaciares hasta circa 11.000 años atrás incluso (Dixon, 2001). Los restos humanos más tempranos en Norteamérica aparecen entre hace 11.000 y 11.500 años en el pasado, lo que sugiere que la colonización humana de la zona debió producirse necesariamente con antelación a esas fechas. Actualmente es claro que las áreas de los márgenes continentales y las islas cercanas a la costa no estaban cubiertas por hielo durante las épocas finales de la última glaciación. Vastas áreas a lo largo de la costa habrían estado deglaciadas a partir de hace unos 16.000 años.

El modelo propuesto por Dixon difiere drásticamente del modelo tradicional del cruce a través del paso de Bering y una subsecuente migración unidireccional en sentido norte a sur. El modelo que se propone implica que las poblaciones provenientes de Asia habrían migrado rápidamente siguiendo la costa del Pacífico mediante el uso de canoas, aprovechando el bioma o megaparche costero intermareal, colonización inicial que habría comenzado entre hace 14.000 y 13.500 años. Según el modelo, de esta forma la costa Pacífica de América podría haber sido ocupada miles de años antes de que el hielo continental en Norteamérica retrocediera. Uno de los aspectos que señala Dixon (2001) en sustento de su hipótesis es que el origen del primer sistema de armas que aparece en el Nuevo Mundo, caracterizado principalmente por el *atlatl*, puede estar vinculado con la caza de mamíferos marinos costeros más que con la de grandes mamíferos terrestres. Por otro lado, los antecedentes sobre los medios de subsistencia que los grupos paleoindios poseyeron y que la arqueología ha recolectado también informarían que, más que sobre la caza de mamíferos terrestres, como se ha mantenido durante décadas, la economía de los primeros habitantes de América estuvo basada en el forrajeo generalizado. Respecto a los imperativos tecnológicos que supone el modelo, evidencias provenientes de otras regiones, informan que los humanos poseyeron canoas y la

habilidad de navegar en la zona oceánica próxima a la costa antes del 14.000 AP (Dixon, 2001).

A partir de postulados como los de Dixon, cuyos antecedentes se encuentran en ideas que se han venido barajando al menos desde la década de 1940, algunos investigadores han explorado con profundidad este modelo. Surovell (2003), por ejemplo, realiza una simulación de la migración costera en el Nuevo Mundo basándose en 5 parámetros: tamaño de la célula (del grupo), tasa máxima de crecimiento poblacional, distancia del “salto” (el movimiento de un asentamiento a otro), y dos funciones que relacionan la densidad poblacional a las tasas de retorno costero y los ecosistemas del interior, respectivamente. Concluye que la migración costera por sí sola es incapaz de explicar la discrepancia espacio-temporal entre Monte Verde y los sitios más tempranos de Norteamérica. Montenegro et al. (2006), por su parte, proponen un método de simulación del movimiento de canoas en el océano, considerando las condiciones naturales, particularmente el viento estimado para la época del último glacial máximo, para indagar desde ahí en la posibilidad de movimientos transoceánicos de grupos humanos que hayan podido contribuir en la colonización de América.

Sin embargo, la evidencia arqueológica para evaluar la hipótesis de la migración costera es difícil de hallar debido a que el ascenso del nivel del mar al cierre del Pleistoceno inundó gran parte de la costa continental. La presencia de geohelminchos en América, los que son intolerantes a condiciones de frío extremo, ha permitido a algunos autores sugerir rutas transoceánicas hacia el Nuevo Mundo (Araújo et al., 1988). Los datos paleoparasitológicos indican que hace unos 8 mil años ocurrió el ingreso de los geohelminchos humanos a las Américas (Montenegro et al., 2006). El fechado americano más antiguos de un geohelmincho hasta ahora reportado proviene del norte de Brasil, el que se remonta a 7.230 ± 80 años AP, correspondiendo a huevos de uncinarias detectados en coprolitos de presunto origen humano (Ferreira et al., 1987, en Araújo et al., 1988), de manera que la fecha de entrada de estos organismos al Nuevo Mundo, dada

la localización de este vestigio, tuvo que haber sido bastante anterior. Estas evidencias han sugerido a algunos autores la necesidad de vías migratorias humanas alternativas a las rutas terrestres por la región de Beringia, señalando que el encuentro de huevos de geohelminos en América en épocas precolombinas tan tempranas permite tal inferencia, debido a que el clima inhóspito de la región de Beringia impediría la mantención del ciclo biológico de esos parásitos en las poblaciones migrantes, funcionando como un filtro (Stewart, 1960, en Araújo et al., 1988). De hecho, algunas teorías sobre el inicio de las culturas americanas proponían que el paso por el puente de tierra de Bering había transformado a América en un continente libre de parásitos al funcionar como un "filtro frío" para las enfermedades, de manera que la mayoría de éstas habrían llegado al nuevo mundo con los colonizadores europeos (Guhl, 2005), pero las evidencias han descartado esta proposición ya que se ha demostrado que existían parásitos autóctonos en América, que causaron enfermedades debilitantes y mortales a los primeros conquistadores del continente. Sin embargo, en lo que respecta a los geohelminos humanos, varios autores han sostenido que el paso ártico sí habría servido como filtro, y que la entrada de estos debe explicarse por una vía no terrestre, ya sea por navegaciones costeras a lo largo de las islas Aleutas (Dixon, 2001), o por navegaciones trans-oceánicas (eg. Meggers y Evans, 1966, en Araújo et al., 1988). Cuando los datos paleoparasitológicos de sitios arqueológicos a lo largo de las posibles vías de entrada a las Américas del hombre prehistórico sean recolectados, será posible hacer estimaciones más concretas respecto a las eventuales rutas utilizadas por estos organismos.

En las secciones siguientes repasaremos los posibles orígenes de las poblaciones americanas de cada uno de los helmintos descritos en el capítulo previo, a partir de las evidencias arqueológicas y biológicas ya detalladas.

7.3. POSIBLE ORIGEN DE LOS HELMINTOS DESCRITOS

7.3.1. *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*. Presuntas vías de introducción en América.

Las dos especies agrupadas bajo el nombre genérico de uncinarias o *hookworms* han sido encontradas en varios sitios arqueológicos del Viejo Mundo, pero el grueso de los hallazgos se han producido en el continente americano. Si seguimos a Marvin Allison, *Ancylostoma duodenale* sería la especie nativa de América, mientras que *Necator americanus* habría sido importado al continente más tardíamente (Rodríguez-Martín, 2000). En concordancia con esta idea, en general se acepta que el lugar de origen de *Ancylostoma* habría sido Asia, mientras que *Necator* tendría su cuna en Africa (Cox, 2002). La denominación de *Necator americanus*, sería por lo tanto meramente histórica, no indicando de ningún modo la procedencia de la especie.

Durante mucho tiempo se consideró que las uncinarias fueron introducidas al nuevo mundo a través de la trata de esclavos (Guerra y Sánchez, 1990), pero actualmente se sabe que ambas especies infectaron a las poblaciones mucho antes del arribo europeo al continente (Araújo et al., 1988). Ya en los años 20, investigadores como Darling y Soper (1920 y 1927, respectivamente, según Horne, 1985) propusieron que la evidencia de estos parásitos en poblaciones aisladas de Sudamérica podía sugerir algo acerca de las migraciones humanas del pasado: La presencia de *A. duodenale* indicaría una migración proveniente del norte de Eurasia, mientras que la presencia de *N. americanus* sería sugestiva de una migración Sudasiática. Soper describió en 1927 una población de aborígenes en un área remota de Paraguay donde un contacto previo con el hombre blanco era, según él, altamente improbable. Este grupo se encontraba infectado por ambos tipos de uncinarias con una relación *Ancylostoma duodenale*: *Necator americanus* de 13:1. Esto hizo a Soper sostener que *A. duodenale* sería endémico a la población antes del contacto europeo. Soper y Darling coincidían en la creencia de que

estos helmintos no podrían haber sobrevivido a las migraciones humanas a través de Norteamérica debido a las condiciones climáticas que deberían haber enfrentado y para las que, como geohelminos, no eran aptos. Es Darling quién propone un contacto transpacífico, descrito por él como el resultado de pescadores arrojados por tormentas (“storm-tossed fishermen”) desde Asia o Indochina, para explicar la introducción de *Ancylostoma* en Sudamérica (Horne, 1985).

Araújo y Ferreira (2000) retoman esta idea, que según ellos sería válida tanto respecto a las uncinarias humanas como para *Trichuris trichiura*, ambos geohelminos de los cuales existen confiables evidencias de su prevalencia en las poblaciones de América precolombina, con varios contextos cuyas dataciones se remontan hasta ca. 5.000 AC, de manera que las inmigraciones humanas a través de Beringia, que se han supuesto poblaron inicialmente América desde el Holoceno temprano, no podrían haber transportado consigo a estos helmintos que, recordemos, infestan exclusivamente al ser humano, ya que el clima frío y las condiciones cercanas al congelamiento del suelo habrían impedido la evolución de los huevos y larvas de los parásitos, indispensable para volverse infectantes y poder transmitirse a nuevos huéspedes, dificultando o impidiendo de ese modo la reproducción de los ciclos biológicos de estos organismos. Por estas razones sugieren, siguiendo a Manter (1967, en Horne, 1985), que la mejor alternativa de explicación para su presencia en Sudamérica sería la de una vía transpacífica de contacto con grupos asiáticos, idea marginal dentro de la arqueología, propuesta por algunos investigadores desde la década del 1920 basándose en similitudes descritas en la cultura material de ambos márgenes del océano Pacífico. A partir de Estrada y (1961) y Meggers y Evans (1966), quienes proponen la existencia de esta clase de contactos, lo que sustentan en evidencias descubiertas en la costa de Ecuador en dos periodos diferentes, eventos que vinculan con diferentes zonas de Asia (con Japón, hacia el 3000 AC; con el Sudeste asiático hacia el 200 AC), Manter propone, apoyándose también en lo postulado por Soper (*Ibid*), que la introducción de *Ancylostoma duodenale* a América habría ocurrido en torno al evento más temprano detectado, siendo el origen

de dicho helminto por lo tanto Japón, mientras que *Necator americanus* habría sido introducido posteriormente, alrededor del 200 AC, en una incursión más tardía desde algún punto del Sudeste asiático.

Otra propuesta para sortear el problema planteado por el ciclo de vida de las uncinarias es la mencionada por Gonçalves y colaboradores (2003), quienes a partir de el modelo planteada por Dixon (2001) indican que sería más factible para su introducción en el continente una ruta de navegación a lo largo de la costa sur del puente de tierra de Bering, lo que según los antecedentes arqueológicos, como ya discutimos, pudo producirse hace más de 14.000 años y permitir que estos helmintos de transmisión por el suelo hayan encontrado terrenos más propicios después de un viaje no más largo que la duración de sus vidas.

Ahora bien, en lo que respecta a descartar la posibilidad de que las uncinarias hayan cruzado a América junto con seres humanos desplazándose a pie por el paso de Bering, hay que tener siempre presentes las particulares características biológicas de estos organismos. Recordemos que desde que las larvas penetran la piel hasta que los parásitos alojados en los intestinos maduran y producen huevos pueden pasar entre 6 y 8 semanas. Posteriormente a eso, los huevos deben atravesar, como hemos visto, una etapa de maduración en el suelo, la que puede completarse en condiciones ideales en uno o dos días (Botero y Restrepo, 2003). Estos factores marcan el tiempo mínimo en que se puede completar el ciclo. Algunas larvas de *A. duodenale*, sin embargo, pueden no concluir su desarrollo de esta forma, alojándose en tejidos musculares o intestinales para reposar en un estado latente por un periodo prolongado, fenómeno que es conocido como hipobiosis (Loukas y Prociv, 2001), y que si bien ha sido descrito para esa especie de uncinaria humana, aun no se ha estudiado profundamente, aunque en otros nemátodos ha sido observado con frecuencia. Adicionalmente, un individuo de la especie *N. americanus* puede vivir de 4 a 5 años y un *A. duodenale* entre 6 y 8 años (Gonçalves et al., 2003). Todos estos aspectos son centrales para establecer la viabilidad del transcurso

terrestre de las uncinarias, y por lo tanto de sus huéspedes humanos. Montenegro et al. (2006) calculan la velocidades que debieron tener los desplazamientos humanos desde Asia a América, considerando modelos paleoclimáticos para el 13.000 AP y el 15.000 AP, y el tiempo de vida de un espécimen de *hookworm*, estimando que la longevidad del parásito, en caso de haber sido ingresado al continente por esa vía, señalaría el periodo máximo de tiempo que se debe tener en cuenta para el cálculo de kilómetros recorridos por año (ya que el parásito necesita transitar entre dos suelos cuyas condiciones sean propicias para completar su ciclo biológico). En el escenario que proponen estiman tiempos de vida máximos de 8 años y mínimos de 1,5 años para las uncinarias y concluyen que las poblaciones Clovis no pudieron atravesar la distancia requerida por la ruta de Beringia en un tiempo que permita explicar razonablemente la presencia comprobada de estos geohelminos en la América precolombina. Mediante este modelo, Montenegro y colaboradores concluyen que si bien no pueden decir si los grupos Clovis fueron o no los primeros en arribar a América, ciertamente no habrían sido los únicos. La velocidad más baja de desplazamiento estimado que encuentran según sus estimaciones podría haber ocurrido hacia el 13.000 AP y sería de 183 km/año, lo que los investigadores consideran una velocidad demasiado alta. Se trata de un experimento interesante, sin embargo, mientras no se investigue con mayor acuciosidad el fenómeno de la hipobiosis para que pueda ser incluida en los cálculos, sus resultados no resultan ser datos concluyentes para descartar una vía terrestre para el ingreso del parásito. No obstante, permite apreciar lo extraordinaria que es la presencia de este geohelminto en América, reforzando o mostrando como más plausible, la hipótesis de tránsito costero de Dixon.

Sin adherir necesariamente a ninguna de estas propuestas alternativas a Clovis *primero*, dadas las condiciones que dificultaban la reproducción de su ciclo biológico, es razonable suponer que el ingreso de las especies de *hookworm* humanas al territorio americano se produjo un número limitado de veces. A partir de estos datos y con el apoyo de la paleogenética sería posible resolver las controversias generadas relativas al

origen de estos parásitos y, por ende, de las poblaciones ancestrales que los portaron. Hoy en día, la amplia y caótica distribución de las enfermedades infecciosas hace difícil establecer a ciencia cierta que linajes son endémicos de una zona determinada y cuales son importados, pero mediante las evidencias paleogenéticas de las cepas de estos parásitos que infectaron a las poblaciones antiguas sería posible determinar paleopoblaciones de agentes infecciosos en momentos donde el flujo genético entre las poblaciones (de parásitos y huéspedes) de Asia y América se volvió muy limitado o nulo, generando una situación en la que es posible entender a estos linajes como poblaciones aisladas, posibilitándose de esta forma encontrar variedades endémicas ancestrales de un parásito dado.

Estableciendo estas paleopoblaciones de parásitos a partir del secuenciamiento de los restos paleopatológicos que sea posible hallar en las regiones que se han propuesto como fuentes posibles para los ejemplares que poblaron América, junto al rescate de esta misma clase de evidencias de los ejemplares de estos helmintos que acompañaron a los pobladores tempranos del continente, sería posible mapear la distribución y el movimiento histórico de estos parásitos y de sus huéspedes, y conocer de esa manera el origen de los grupos que poblaron América precolombina y el posible arribo de otros contingentes humanos cuyo impacto en términos genéticos o fue escaso y su rastro se ha perdido, o fue inexistente, lo cual no implica que su impacto en términos culturales haya carecido de importancia.

Mediante esta línea de investigación se haría posible descartar o comprobar las teorías ya expuestas, permitiendo pesquisar situaciones como las relativa al contacto del viejo y el nuevo mundo, y en general entre regiones que permanecieron aisladas durante miles de años. Sin embargo, dentro de un mismo continente, sería más complejo seguir la pista de las cepas de uncinarias y por lo tanto de los movimientos de sus huéspedes a través de estos métodos debido a que este parásito presenta una transmisión de tipo horizontal dentro de un ciclo que no requiere una relación directa entre los huéspedes para pasar de

unos a otros. No precisando de un contacto muy próximo, ni siquiera un contacto directo, la transmisión de este helminto permite que grupos diferentes que circulen por los mismo espacios con varios meses de diferencia puedan transmitirse la infección entre sí. Es decir, que dos grupos humanos presenten una vinculación por medio de sus variedades de uncinarias no implica que hayan convivido juntos, que hayan sido originalmente un solo grupo o que hayan mantenido en absoluto algún contacto o flujos genéticos difíciles de pesquisar, ni siquiera una continuidad poblacional entre los huéspedes que portaron a los parásitos de un mismo linaje; sólo indica que probablemente esas poblaciones compartieron el mismo espacio geográfico en el mismo momento o en momentos diferentes pero relativamente próximos, lo que no dice nada de la clase de relación genética o social entre ambas poblaciones de huéspedes. Por esto, una evidencia paleogenética de *Ancylostoma duodenale* o *Necator americanus* empleada en este sentido sólo podría servir como apoyo a otra clase de evidencias. Esta clase de dificultades se reduce, por cierto, atendiendo a las características ecológicas de un medio dado y demográficas de una población en relación a las características biológicas de las uncinarias. Así, por ejemplo, es evidente que la contaminación casual de un grupo con heces arrojadas por otro grupo es poco probable que se produzca en un ambiente frío o entre poblaciones con una escasa demografía que trashuman en grandes áreas, y mucho más probable en un ambiente húmedo, densamente poblado y de reducida extensión.

7.3.2. *Trichuris trichiura*. Presuntas vías de introducción en América.

Los hallazgos paleoparasitológicos de *T. trichiura* muestran una amplia distribución mundial del helminto, que incluye múltiples registros en América en tiempos precolombinos (ver Gonçalves et al., 2003). Por razones que se desconocen, los hallazgos de *Trichuris trichiura* en el Nuevo Mundo son más frecuentes que los de *Ascaris*, especie que en Chile todavía no ha sido encontrada, a pesar de que los huevos de *T. trichiura*, como ya se precisó, son más sensibles a la desecación que los resistentes

huevos de *Ascaris* (Botero y Restrepo, 2003: 110). Además, *A. lumbricoides* produce aproximadamente 200.000 huevos diarios (Botero y Restrepo, 2003: 96), en relación a los 3.000 a 20.000 que produce *T. trichiura*, lo cual hace que el hallazgo de *Ascaris* en las materias fecales humanas sea más probable, aun en casos de infecciones leves. La enorme prevalencia a nivel mundial que presenta actualmente *Ascaris lumbricoides*, vuelve aun más misterioso su escaso correlato paleopatológico.

En poblaciones altoandinas actuales de Perú, por ejemplo, donde se da un estilo de vida de comunidades agrícolas poco sofisticadas con una economía que ha permanecido casi invariable por cientos de años, *A. lumbricoides* aparece siempre entre las primeras prevalencias de enteroparásitos, seguido en frecuencia generalmente por *H. nana*, que es más frecuente que *T. trichiura* (Cabrera et al., 2005). Todo esto podría llevar a considerar que la infección provocada por *Trichuris trichiura* era mucho más frecuente en las poblaciones nativas de América antes del contacto europeo que lo que actualmente se observa, donde en términos generales la prevalencia de *Trichuris* en los países endémicos de América Latina es muy similar a la de *Ascaris* (Botero y Restrepo, 2003:110). Ya que no existieron grandes cambios ecológicos con posterioridad al contacto y ambas especies se encontraban presentes en épocas pre-contacto, esta diferencia en el registro arqueológico con respecto al panorama actual nos podría llevar a suponer que en este proceso tuvieron vital importancia cambios conductuales y sociales. Otra hipótesis que se puede plantear es que haya existido una diferencia sustancial entre las cepas de *Ascaris* europeas y las americanas, una especificidad para sus huéspedes respectivos, de manera que las variedades importadas resultaron más exitosas al invadir el espacio ocupado por sus pares americanas, superando de paso a *Trichuris trichiura* que hasta ese entonces era un parásito más exitoso, al menos en términos de dispersión y prevalencia. Todo esto entra, por cierto, en el campo de la especulación, pero tal vez algún día la paleogenética y la paleopatología puedan explicar estos cambios en la epidemiología de los endoparásitos intestinales en América, lo cual es una expresión de los procesos que vivieron sus huéspedes humanos.

Como ya se indicó, sólo una vez se han hallado huevos del género *Trichuris* precolombinos en Norteamérica, a pesar de la gran cantidad de coprolitos que se han analizado. Más aun, los especímenes identificados no pudieron ser adscritos a la especie *T. trichiura*. Por contraste, en Sudamérica los reportes son suficientemente confiables para asegurar su presencia precolombina. Cabe preguntarse a qué se debe este contraste en las evidencias con las que contamos de ambas áreas. Se deben considerar los factores ecológicos de la zona que ha sido principal foco de la paleopatología en Norteamérica, el sudoeste, región árida, donde si bien las condiciones de temperatura son ideales (20-30° C), la falta de humedad y de sombra y con un suelo incapaz de retener el agua, pueden haber impedido o limitado la propagación del geohelminto. Sin embargo, si se considera que *Ascaris*, así como *hookworm*, requieren condiciones climáticas muy similares a las que necesita *Trichuris trichiura*, y que ambos parásitos, a diferencia de *T. trichiura*, se encuentran abundantemente en el registro arqueológico de esa zona, se puede poner en duda, aunque no descartar aun del todo, que esta diferencia se deba únicamente a las condiciones del medio.

Una alternativa de explicación sería situar la introducción del parásito a través de la costa sudamericana. De cualquier forma, es bastante improbable que su introducción haya ocurrido por el norte junto a poblaciones de cazadores terrestres, debido a las condiciones climáticas poco propicias para un geohelminto con las características descritas para *T. trichiura*. Para el caso de este parásito, es válido todo lo señalado respecto a las uncinarias. Si seguimos a Araújo y Ferreira (2000), las migraciones terrestres prehistóricas que cruzaron el puente de Beringia no pueden ser las responsables de la introducción de *Trichuris trichiura*, ni de *hookworm*, debido a que el paso obligado por el suelo que necesitan estos geohelminintos para sus huevos y larvas se desarrollen y sean infectantes, no puede producirse si las condiciones de calor y humedad no se ajustan a un determinado rango, condiciones opuestas a las que se podría esperar en Beringia hacia el final del última máximo glacial, donde las características del

suelo habrán sido próximas al congelamiento. Dado que no se ha reportado la ocurrencia de hipobiosis en el caso de *T. trichiura* y su longevidad es comparable a la de las uncinarias, la idea de contactos prehistóricos transoceánicos o costeros se imponen como la explicación más factibles para la introducción de esta especie en América, a pesar de que existen pocos antecedentes que apoyen desde la arqueología esta propuesta. A través de una ruta transoceánica o desplazándose por la costa, colonos prehistóricos pudieron introducir a estos helmintos a través del suelo al Nuevo Mundo, ya que su viaje, a diferencia del de los colonos terrestres, pudo ser más corto que una generación y más corto incluso que rango de vida de sus parásitos, de manera que los huéspedes pudieron haber arribado a un clima más propicio en que depositar los huevos de los geohelmintos junto a sus heces, permitiendo la supervivencia de organismos como *Trichuris trichiura*. El hecho de que los asentamientos pasajeros de estos colonos marítimos, si es que existen, deban estar actualmente sumergidos hace difícil corroborar esta hipótesis.

Por otra parte, la escasa o nula representación de *Trichuris trichiura* en Norteamérica, podría ser explicada a partir de la idea de viajes transpacíficos más recientes de pescadores asiáticos que habrían hecho contacto directamente con las costas de Sudamérica, como proponen desde temprano algunos investigadores (Rivet, 1926; Meggers y Evans, 1966, en Araújo y Ferreira, 2000) principalmente basándose en analogías culturales. Para corroborar o rechazar esta idea haría falta así mismo conocer el registro paleoparasitológico de Centroamérica, hasta la fecha inexistente, y preguntarse qué clase de movimiento o intercambio cultural y humano existió desde Sudamérica hacia Norteamérica en el pasado y cuales eran sus características. No parecen haber condiciones climáticas en Centroamérica que puedan haber retenido a un geohelminto como *T. trichiura* en Sudamérica. Como en el caso de *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, en lo que respecta a *Trichuris trichiura* la paleogenética puede contribuir a resolver algunas de estas interrogantes, sobre todo en las que dicen relación con cuántas veces y por qué rutas ingresó este geohelminto al territorio americano, lo cual podría informarnos a su vez sobre el origen de sus

huéspedes. Más difícil sería indagar respecto al curso que los huéspedes de este parásito siguieron dentro del continente, ya que su modo de transmisión horizontal no da garantías de continuidad poblacional y, a diferencia de *hookworm*, dada su poca especificidad de huésped, ni siquiera de continuidad dentro de una especie.

7.3.3. *Enterobius vermicularis*. Presuntas vías de introducción en América.

A diferencia de los geohelminthos, *Enterobius vermicularis* no requiere de condiciones ambientales propicias, ya que no necesita pasar por el suelo para completar su desarrollo, siendo sus huevos inmediatamente infectantes al salir al exterior a la vez que son comunes las reinfecciones por este parásito. Así, *E. vermicularis* pudo haber sido introducido por casi cualquier medio o ruta que hayan seguido los seres humanos en su transcurso hacia América, incluidas migraciones de cazadores terrestres que se prolongaran por muchas generaciones a través de los fríos árticos del puente de tierra del estrecho de Bering. De hecho, en las zonas tropicales cálidas, donde los niños viven con poca ropa y en frecuente contacto con el agua, la prevalencia de la infección es menor que en las regiones frías, con seres humanos habituados a usar mucha ropa, a vivir en ambientes cerrados y estrechos y a bañarse con poca frecuencia (Botero y Restrepo 2003).

De manera que, considerando que la transmisión de *E. vermicularis* se realiza de persona a persona en íntimo contacto, si bien este parásito puede no precisar de condiciones climáticas particulares para su dispersión, su distribución si puede relacionarse con ciertas condiciones habitacionales y sociales ideales.

Debido a estas características, *E. vermicularis* se diferencia enormemente de los otros helmintos mencionados en este estudio ya que presenta la particularidad de que, a pesar de tener un modo de transmisión horizontal en sentido estricto, ésta se manifiesta a la

larga de una forma análoga a una transmisión de tipo vertical. Las diferentes metapoblaciones de *E. vermicularis* probablemente permanecen en un aislamiento relativo entre los diferentes grupos de huéspedes estrechamente relacionados, es decir, cada infrapoblación se perpetúa preferencialmente dentro de una misma familia o de grupos de convivencia muy estrecha, de manera que la metapoblación de parásitos de la que forma parte se transmite en forma vertical generación tras generación de huéspedes. Dentro de esta dinámica, los flujos genéticos no deben ser raros durante el transcurso de las generaciones entre las infrapoblaciones en el mismo conjunto de huéspedes de convivencia próxima, entre las familias, al interior de la banda o del grupo de personas que cohabitan un espacio, pero si deben ser muy escasos el flujo hacia y desde estos a otros conjuntos humanos y otras metapoblaciones, aun en espacios geográficos próximos. Esto es así debido a que, como ya se indicó, la transmisión de este parásito se produce mediante contactos muy íntimos y las reinfecciones en un mismo individuo son muy frecuentes. Evidentemente, las posibilidades de flujo genético y de cambio de huésped por parte de las poblaciones del parásito son múltiples, sobre todo en la niñez, sin embargo el grueso del pool genético de una infrapoblación de *E. vermicularis* debe reproducirse generación tras generación de forma más bien vertical. Esto valdría la pena comprobarlo clínicamente, sin embargo es una posibilidad digna de analizar, ya que si la transmisión se desarrollara con el patrón descrito, la información que sería posible obtener del estudio paleopatológico y paleogenético de *Enterobius vermicularis* es bastante distinta a la que aportarían el resto de los helmintos parásitos intestinales. A partir del conocimiento de las cepas ancestrales de *E. vermicularis* en América precolombina, y del mapeo genético de cepas ancestrales y actuales en el mundo, cabría la posibilidad de trazar afinidades genéticas que permitieran determinar el origen geográfico de dicha cepa ancestral y por ende de sus portadores. Esto es algo que ya fue propuesto previamente en este estudio en relación con *Ancylostoma sp.* y *Trichuris trichiura*, pero *Enterobius vermicularis* ofrecería una mayor confianza en lo que respecta a la continuidad poblacional de sus huéspedes.

De esta forma, con el estudio paleogenético de este helminto y siempre en el plano de la especulación, también sería posible llegar al conocimiento de cuántas cepas de *Enterobius vermicularis* llegaron a América, cuál era su origen geográfico y el de sus huéspedes, considerando el particular valor que el aislamiento genético de miles de años que ocurrió en América tiene para la construcción de filogenias de diferentes marcadores moleculares; por otro lado, una aproximación paleogenética sobre marcadores muy variables, podría aportar datos filogeográficos que nos hablaran respecto a la distribución y las relaciones filéticas entre las poblaciones del parásito que infectaron a los pobladores de Norteamérica, así como sobre aquellas que afectaron a los antiguos grupos humanos del norte de Chile, con lo cual se podría indagar aspectos tales como si estos últimos huéspedes provenían del norte, y de ser así cuánto tardaron en llegar hasta estas latitudes; o bien, si es posible vincular a estas poblaciones sudamericanas con migraciones transpacíficas mejor que con los cazadores de megafauna o los canoeros forrajeadores que cruzaron el estrecho de Bering. En realidad, las posibilidades que ofrecería un parásito de este tipo cuya transmisión se mantuviera relativamente acotada primero al ser humano y luego a un grupo estrechamente relacionado, generación tras generación, son enormes. El estudio de Wirth et al. (2004) ya mencionado referido a una genética de poblaciones comprada de *H. pylori* en dos grupos humanos actuales es una muestra poderosa respecto a las posibilidades de este tipo de indagaciones, pero en los que respecta a la competencia de la paleopatología, paleoparasitología y antropología física, un parásito como *Enterobius vermicularis* presenta la ventaja decisiva de ser común y relativamente fácil de recuperar en contextos arqueológicos y en restos momificados, y además al permitir la realización de análisis macroscópicos de sus restos y el hecho de ser un metazoo, permite tener un mejor control de la contaminación de las muestras que cuando se trabaja con microorganismo. Además, los huevos de helmintos pueden conservarse y recogerse en sitios donde ni siquiera se hayan logrado conservar los cuerpos.

Por razones desconocidas son escasos los hallazgos de este parásito en material arqueológico fuera de América. La única evidencia que se remonta a la antigüedad aparece en China y es de hace 2100 años (Wei, 1973, en Gonçalves et al., 2003). Sin embargo, en base a varias líneas de evidencia, incluyendo el análisis cladístico, se ha descartado que *E. vermicularis* sea originario del Nuevo Mundo, demostrándose que este helminto tiene una larga historia de coevolución con su huésped humano, con los que probablemente coexistió en África desde mucho tiempo antes de la dispersión humana a través de los demás continentes (Gonçalves et al., 2003; Iñiguez et al., 2003b). Tal vez parte de la explicación respecto a la escasez de registros fuera de América se encuentre en lo improbable que es hallar los huevos de este parásito en los restos fecales. Quizás la pregunta debería plantearse de otra manera, a saber, ¿por qué es tan común este helminto en el registro arqueológico del Sudoeste de Norteamérica? ¿Qué factores produjeron una prevalencia tan elevada de la infección?

El método de diagnóstico de *E. vermicularis* en restos arqueológicos ha dependido fundamentalmente, como para todos los helmintos, del examen microscópico, un método particularmente pobre para la identificación de infecciones prehistóricas (Araújo et al., 1998). Iñiguez y colaboradores (2003b) presentan el primer diagnóstico molecular de *E. vermicularis* a partir de coprolitos obtenidos de sitios arqueológicos chilenos y norteamericanos. Las muestras chilenas provenían de Caserones, en el valle de Tarapacá, con datación de 400 A.C. a 800 D.C.; de Tulán, en San Pedro de Atacama, con datación de 1.000 A.C.; y de Tiliviche, cuya data sería del 4.110 al 1.950 A.C.. Hay que poner énfasis en que en estos casos los huevos de helmintos no son extraídos de las heces petrificadas y lo que se analiza es el coprolito completo, el cual durante el proceso es pulverizado. La secuencia blanco en el genoma de *E. vermicularis* para la amplificación por PCR fue la región 5S del RNA ribosomal, una región altamente conservada de unos 800 pb con varias copias en cada organismo, para la cual se diseñaron partidores. Este estudio solamente se constituyó como un ensayo, ya que como investigación presenta severas debilidades en tanto no permitió determinar el

origen (sitio arqueológico y fechado) de las muestras que mostraron resultados positivos al análisis molecular para *E. vermicularis*. Sin embargo, demuestra la factibilidad de producir amplificaciones exitosas de DNA antiguo de helmintos.

7.3.4. *Trichostrongylus* sp. Presuntas vías de introducción en América.

El problema que plantea *Trichostrongylus* es el mismo que se presenta ante cualquier parásito que no sea exclusivo del ser humano y que sea capaz de infectar y perpetuar su ciclo en múltiples animales: es imposible determinar el momento preciso en que este género de helmintos hizo su ingreso a América y la misma pregunta resulta absurda, ya que son incontables las vías por las que pudo distribuirse. La discontinuidad poblacional de los huéspedes de este parásito lo hace inservible como marcador biológico. De lo que sí nos puede hablar *Trichostrongylus* es de los aspectos socioculturales y ecológicos que trae aparejados su prevalencia dentro de una población humana. La infestación de un grupo humano por parte de este geohelminto tiene que ver con carencias en términos de higiene y de sanidad, con los comportamientos relativos a la deposición de las excretas humanas y, en tanto esta parasitosis se establece como una zoonosis, también con la convivencia con animales y el manejo de sus excrementos.

Así también, la prevalencia de *Trichostrongylus* en poblaciones prehistóricas puede aportar antecedentes conducentes al develamiento de las condiciones de salud aparejadas a su infestación, dado que es un parásito capaz de producir anemia intensa. Es notable que una de las primeras descripciones de la infección en la región fuera reportada en las materias fecales de indígenas de la Guajira Colombiana, donde se encontraron en 1966 12 casos entre 247 muestras (Botero y Restrepo, 2003). Esto podría indicar que existen condiciones culturales ancestrales en el continente implicadas en la prevalencia del parásito, las que se han perpetuado hasta el día de hoy en los grupos indígenas de Sudamérica.

7.3.5. *Paragonimus sp.* Presuntas vías de introducción en América.

Para todas las especies de *Paragonimus* hay abundantes reservorios silvestres, de manera que el ser humano ingresa de forma accidental dentro de estos ciclos. Se requiere del consumo de cangrejos y otros crustáceos de agua dulce para que el hombre llegue a infectarse y, por supuesto del apareamiento de condiciones ecológicas y aspectos culturales particulares, como el relativo al consumo de esos animales crudos o mal cocidos. Esta costumbre existe en algunos grupos aborígenes descritos en Sudamérica, en países como Colombia, Perú y Ecuador. En Colombia, por ejemplo, fue descrito un ciclo que se producía en una comunidad indígena de indios Katíos-Emberá, en la costa pacífica, donde fueron identificados los huéspedes intermediarios, especies de cangrejos y caracoles, y las prácticas que permitían que el ser humano ingresara a ese ciclo como huésped definitivo, las que consistían en la arraigada costumbre de defecar en el agua y de consumir los cangrejos crudos debido a la creencia de que ello mejoraba las capacidades para la caza (Botero y Restrepo, 2003). Este tipo de aspectos culturales perfectamente pueden haber reproducido el ciclo de *Paragonimus sp.* en comunidades precolombinas, sin embargo el hecho de que este ciclo pueda producirse de forma totalmente independiente al ser humano vuelve absurda la pregunta respecto al origen de las cepas que afectaron al hombre americano temprano, así como dificulta el uso de este parásito como marcador biológico, ya que las posibilidades de su ingreso a América así como de su reproducción a través del tiempo son inabarcables, sobre todo teniendo en cuenta que el cambio de huéspedes puede ser habitual en *Paragonimus sp.*, y que por otra parte que son varias las especies del género que se ha registrado pueden infectar al hombre, y todas éstas cuentan con reservorios silvestres en América. Ni siquiera un análisis paleogenético podría aportar mayores antecedentes debido a que el ciclo de *Paragonimus* impide seguir el flujo de sus generaciones, pudiendo perfectamente entre una y otra pasar por huéspedes de diferentes especies, las cuales ni siquiera deben ocupar el mismo espacio físico, ya que la etapa acuática del ciclo biológico permitiría, bajo ciertas circunstancias, grandes desplazamientos del parásito. Los antecedentes que

sí puede aportarnos el conocimiento de este helminto son los relativos a los aspectos culturales, sociales y ecológicos necesarios para que el hombre ingrese en el ciclo silvestre.

7.3.6. *Diphyllbothrium* spp. Presuntas vías de introducción en América.

Reinhard y Urban (2003) presentan la evidencia paleopatológica más antigua de huevos de *Diphyllbothrium pacificum*, tras el análisis de los coprolitos recuperados de la disección de momias Chinchorro con entre 4.000 y 5.000 años de antigüedad, lo que corrobora fehacientemente que las poblaciones precolombinas de la costa norte de Chile fueron infectadas por este céstodo.

El modo de transmisión horizontal y las características del complejo ciclo de *Diphyllbothrium* sp. trae consigo que su empleo en términos de marcador biológico se vea limitado a señalar aspectos exclusivamente de tipo cultural, social y ecológico. Un análisis peleogenético tendiente a determinar los linajes del parásito, su origen y como se vinculó al ser humano resultaría inútil por las mismas razones ya mencionadas para *Paragonimus*. El hecho de que en términos estrictos el ser humano solo sea un huésped accidental en el ciclo de *Diphyllbothrium* permite suponer la inexistencia de vínculos coevolutivos entre huéspedes y parásitos, volviendo a este helminto inútil en relación a la investigación respecto a sus huéspedes humanos dada la infinidad de formas en que pudo reproducir y perpetuar su ciclo sin que en ello tuviera injerencia el hombre. De esta manera, no existen medios para determinar a partir de las relaciones paleogenéticas entre los linajes de este parásito relaciones entre sus huéspedes, más allá de la mera convivencia ecológica ocasional.

La distribución del material paleoparasitológico de *Diphyllbothrium* sp. refleja la distribución geográfica moderna que tienen estas especies, y está relacionada con los

hábitos de consumo de pescados de los seres humanos (Gonçalves et al., 2003). El reporte de 1984 de Ferreira y colaboradores de huevos de *Diphyllobothrium pacificum* en el sitio de Tiliviche, con una datación del estrato entre 4.110 y 1.950 AC, resulta de sumo interés, como ya se indicó, en tanto el sitio se encuentra a 40 km de la costa, señalándonos la existencia de patrones de movilidad entre las poblaciones de la costa y el interior. En el valle de Lluta, Santoro et al. (2003) comparan los periodos Intermedio Tardío y el Tardío en términos paleoparasitológicos. *Diphyllobothrium pacificum* fue encontrado solamente en el estrato correspondiente al Periodo Tardío Inca. Al análisis dietario de los coprolitos reportó un incremento en el consumo de peces en este periodo, lo que sugiere que la explicación para la mayor prevalencia de la infección por el cestodo esté en un cambio en los hábitos alimenticios, tanto con respecto a qué se está comiendo como a la forma en que se consumen los alimentos. Entonces cabría preguntarse si la influencia Inca sólo produjo que se aumentara la inclusión de peces en la dieta o trajo además consigo costumbres como su consumo crudo o la selectividad por ciertas especies que quizá son más proclives a transmitir la infección.

7.3.7. *Hymenolepis nana*. Presuntas vías de introducción en América.

El ciclo de vida de *Hymenolepis nana* presenta particularidades respecto a otros helmintos. En primer lugar, su modo de transmisión horizontal y su inespecificidad de huésped, que le permite circular entre roedores, tanto domésticos como silvestres, y el ser humano, hacen de este un parásito aparentemente poco apto como marcador biológico. Sin embargo, su forma de transmisión horizontal presenta ciertos rasgos que pueden hacerla en alguna medida análoga a una transmisión vertical, en tanto a que ésta se produce mediante la ingestión directa de los huevos, los que son infectantes al momento de salir al ambiente, no requiriendo de una etapa en el suelo ni del paso a través de vectores o huéspedes intermediarios. La transmisión se desarrolla principalmente por contactos mano – boca, es decir, por un contacto estrecho entre los

diferentes huéspedes, manteniendo a los huevos dentro de una misma familia o dentro de un grupo estrechamente vinculado, lo cual permitiría conservar siempre en grueso del pool genético en el mismo núcleo de huéspedes generación tras generación, aun existiendo buenas posibilidades de cambio de huésped, tanto en lo que respecta a otros grupos humanos como a otras especies.

Macnish et al. (2003) indican con respecto a la persistencia de una infección de *Hymenolepis microstoma* en una población aislada de Australia, que el parásito pudo perpetuarse perfectamente entre los individuos de la comunidad vía una transmisión directa humano a humano, pero que en el caso de este parásito lo más probable es que haya existido un vector artrópodo. *H. nana*, sin embargo, no necesita de un huésped intermediario y perfectamente puede mantenerse en una población sin necesidad de un huésped diferente al humano. En un panorama de esta naturaleza, el traspaso del parásito entre diferentes comunidades humanas requeriría que se produjera un contacto próximo entre ellas.

En el caso de las antiguas comunidades de América cabe preguntarse si en ellas se producía un fuerte comensalismo por parte de roedores domésticos sobre los seres humanos que permitiera un flujo genético constante entre poblaciones de *H. nana* albergadas en dos o más especies de huéspedes o más bien, los roedores eran silvestres, no comensales, y este intercambio de parásitos pudo ser a lo sumo esporádico, lo que hubiera permitido la mantención de cierta consistencia en el pool genético de la metapoblación de parásitos respecto a la población de sus huéspedes humanos. Una vinculación entre parásitos y huéspedes humanos como la propuesta permitiría, a partir de la evaluación paleogenética de los restos arqueológicos del helminto, comenzar a indagar en los aspectos ya mencionados para especies como *Enterobius vermicularis* y *Ancylostoma sp.*. Por las características del ciclo de *H. nana*, éste parásito se ubicaría en una posición intermedia entre dichas infecciones en lo que respecta a la estrechez de su relación con sus huéspedes humanos.

De poder comprobarse esta analogía relativa de la transmisión de tipo horizontal de *H. nana* con una tendencia a la verticalidad, más que los aspectos referidos al ingreso de la especie al continente, lo que sería difícil o imposible de pesquisar con algún grado de certeza, ya que lo más probable es que se haya esparcido por el mundo a través de diferentes roedores volviéndose tarde o temprano una infección zoonótica para los humanos, se podría dar curso, por ejemplo, a investigar en sociedades antiguas en las que se pueda comprobar una relación estrecha entre *H. nana* y sus huéspedes humanos, la evolución demográfica de éstas a partir de la construcción de filogenias del parásito (cuyas tasas de evolución serían más elevadas y sus restos orgánicos estarían mejor conservados), a escalas temporales en que la resolución de los marcadores convencionales usados en la genética de poblaciones tal vez no puedan aproximarse. De este modo, debería ser posible indagar a través de la relación entre sus respectivas cepas de *H. nana* el origen común de dos comunidades aisladas y el tiempo transcurrido desde la escisión.

Los huevos de *H. nana* y *H. microstoma* son morfológicamente muy similares, siendo difícil distinguirlos usando únicamente el microscopio. Usualmente se estima que *H. microstoma* tiene huevos de mayor tamaño que *H. nana*, pero un diagnóstico basado exclusivamente en dicha característica resulta poco fiable. El gusano adulto de *H. microstoma*, en cambio, puede ser diferenciado con más seguridad de *H. nana* en base a algunos rasgos característicos, como la forma del gancho o el sitio de fijación. Sin embargo, dichas diferencias no se manifiestan en los huevos que es posible extraer de los restos fecales. En un sondeo longitudinal de los parásitos gastrointestinales realizado de comunidades humanas de zonas remotas en el noroeste del oeste australiano, *H. nana* resultó ser la especie de endoparásito más común. Este análisis se hizo en base al diagnóstico microscópico de huevos obtenidos en muestras fecales, pero además, en un estudio posterior (Macnish et al., 2003), se emplearon herramientas moleculares para caracterizar los especímenes obtenidos tanto en relación a loci nucleares como

mitocondriales. Mediante estas técnicas se realizó el primer reporte de una infección humana por parte de *Hymenolepis microstoma*, comprobándose una infección mezclada con *H. nana*. La relevancia de este descubrimiento reside en primer lugar en la generación de una herramienta de análisis molecular útil basada en RFLP (*Rapid Fragment Length Polymorphism*) que permite detectar al parásito *H. microstoma* en muestras fecales de roedores y humanos, herramienta que eventualmente podría tener algún uso en paleopatología permitiendo una comprensión más amplia de la epidemiología de este parásito en el pasado.

Por otro lado, la similitud de las dos especies en lo que respecta al material paleoparasitológico, y teniendo en cuenta que hasta el reporte de Macnish et al. (2003) no se consideraba que *H. microstoma* infectara al ser humano, plantea la posibilidad de que las infecciones por este parásito hayan sido mal diagnosticadas como de *H. nana*. Además, Macnish et al. (2003) sugieren que, debido a lo esporádico que es el vertimiento de huevos en las heces por parte de *Hymenolepis spp.*, es posible que en general las infecciones producidas por las especies de este género hayan sido infradiagnosticadas. Esto lo dice en relación a los estudios parasitológicos, pero con mayor razón se puede sugerir para el diagnóstico paleoparasitológico.

En el caso de comprobarse eventualmente la infección humana paleoparasitológica por parte de otra especie del género, como *Hymenolepis microstoma*, habría que preguntarse además cuál era el artrópodo que servía de huésped intermediario, aunque también existe la posibilidad de la mantención del ciclo dentro de la comunidad. Sin embargo, en el caso de esta variedad, lo más probable es que el ciclo se desarrolle vía artrópodos como huéspedes intermediarios (Macnish, 2003). La ingestión de estos insectos es lo que produce la infección humana. En este caso, los flujos y demás procesos genéticos que afectarían a la metapoblación de parásitos de un grupo humano tenderían a ser más impredecibles e independientes respecto a sus huéspedes, lo que les restaría a los parásitos su potencial como marcadores biológicos.

En relación al estudio de Santoro et al. (2003), la desaparición en el registro del valle de Lluta de *H. nana* para el periodo Inca no se ha explicado. Considerando los estragos epidemiológicos que ocasionó el arribo del Incanato a la región, como lo demuestra el estudio en cuestión, es poco probable que la desaparición en el registro paleoparasitológico de este parásito se relacione con una mejora en aspectos como la salud de los individuos, la higiene o la convivencia con vectores. Una posible explicación puede encontrarse en el advenimiento de un parásito competidor que haya impedido el éxito de *H. nana* dentro de una población donde previamente tenía un buen desempeño. En el periodo pre Inca, según Santoro et al. (2003) *H. nana* presenta una de las mayores prevalencias junto con *Trichuris trichiura*. Considerando que *H. nana* arroja normalmente relativamente pocos huevos en las heces comparado con otros helmintos (Macnish et al., 2003), se puede especular que era la infección enteroparasitaria más importante en el valle en ese momento. La aparición de *Diphyllobothrium pacificum* con una prevalencia que transita desde nula, en el periodo pre Inca, hasta muy alta en el periodo Inca, puede haber influido en el fin del éxito de *H. nana*. Aunque son especies con características diferentes, ambos son céstodos y pueden haber competido. Probablemente *H. nana* no desapareció por completo, pero si redujo su prevalencia, lo que lo hizo desaparecer del muestreo. *H. nana*, después de todo, no es un parásito que se encuentra comúnmente en el registro, probablemente debido a los aspectos señalados por Macnish et al. (2003), a pesar de que al menos hoy es uno de los helmintos más frecuentes. En comunidades altoandinas de Perú, *H. nana* se encuentra siempre entre las primeras prevalencias de enfermedades enteroparasitarias producidas por helmintos, sólo superado por *Ascaris lumbricoides* (Cabrera et al., 2005). Más que dejar de existir en el periodo Inca, *H. nana* constituía una hiperinfección en la población del Periodo Intermedio Tardío y valdría la pena preguntarse a qué se debía ello.

8. SELECCIÓN DEL PARÁSITO IDÓNEO PARA UNA PRIMERA APROXIMACIÓN AL PROBLEMA

8.1. INTRODUCCIÓN

Una vez estudiada la gama de aspectos que fue preciso considerar en pos de elegir a él o los parásitos más apropiados en términos de disponibilidad, posibilidad, factibilidad e información disponible y potencial para su utilización como fuente de evidencia para la antropología física, en particular desde una perspectiva paleogenética, lo que nos resta por hacer es sintetizar la información recabada para definir finalmente sobre cuál de los helmintos estudiados propondremos nuestra aproximación.

Los aspectos contextuales que es posible determinar en base a las características epidemiológicas de una comunidad extinta, características que es posible conocer mediante las herramientas de la paleoparasitología y también a través del empleo de la paleogenética, pueden permitir aproximarse a la reconstrucción sincrónica una sociedad. Sin embargo, el principal interés que guía este trabajo es plantear la posibilidad de que mediante el uso de estas mismas herramientas y de las que aporta la genética de poblaciones y los progresos relativos a la recuperación del DNA antiguo, empleando las mismas evidencias se pueda dar un paso más allá en la indagación aportando con líneas de investigación que permitan reconstruir las sociedades del pasado desde un punto de vista diacrónico. Esto implica investigar y proponer formas en que los parásitos puedan ser empleados como marcadores biológicos para las poblaciones que se constituyeron en sus huéspedes.

8.2. ASPECTOS A CONSIDERAR

Una clasificación de aquellos aspectos de los ciclos biológicos de los helmintos que pueden afectar su potencial como marcador biológico es indispensable para presentar un marco de referencia común para juzgarlos. Hecha esta clasificación es posible establecer criterios más conspicuos para determinar el parásito más apropiado para una aproximación tentativa.

El valor como marcador biológico de los helmintos parásitos intestinales aquí analizados se manifiesta de forma diferente en cada uno de ellos de acuerdo a cuatro características principales de sus ciclos de vida. Estas características están en directa relación con lo estrecha que es la relación huésped – parásito en cada uno de los casos, ilustrando el tipo y el alcance de las líneas de investigación de cada una de estas especies permitiría desarrollar en la investigación bioantropológica. Entenderemos como una relación parasitaria “estrecha” aquella en que el flujo génico y las migraciones (el cambio de huésped) se reduzca drásticamente o se anule. Mientras más estrecha es la vinculación huésped – parásito, la información que se puede extrapolar de las poblaciones de huéspedes humanos a partir del estudio genético de los parásitos que los infectaron e infectan es mayor y más confiable. Las cuatro principales características que tomaremos en cuenta para describir estas relaciones interespecíficas son:

I. Tipo de transmisión.

Todos los parásitos analizados son en sentido estricto patógenos de transmisión horizontal. Sin embargo, como ya se ha indicado, proponemos que existen matices que permitirían analogar ciertas estructuras de transmisión horizontal con la transmisión vertical, es decir, postulamos que en ciertos casos la transmisión horizontal del patógeno se ve limitada por su expresión fenotípica presentando propiedades que en general se

comprenden como exclusivas de aquellas formas de transmisión que son, en sentido estricto, verticales. Con esto nos referimos básicamente al hecho de que la composición y evolución de las genealogías, que en los parásitos que se transmiten verticalmente, como algunos virus y bacterias, es homóloga a la de sus huéspedes, en organismos como *Enterobius vermicularis* y en menor medida en *Hymenolepis nana* (bajo ciertas circunstancias), considerando algunos aspectos ya descritos de su comportamiento reproductivo y ciclos biológicos, podrían presentar topologías con ciertos grados de equivalencia pesquizable respecto a la de sus huéspedes.

II. Desarrollo de los huevos al salir al ambiente.

El nivel de desarrollo que presentan los huevos al entrar en contacto con el ambiente es un claro indicador de la rapidez con que el parásito es capaz de infectar a nuevos huéspedes o de producir una reinfección. Una especie de endoparásito cuyos huevos han evolucionado de tal manera que son inmediatamente infectantes al salir al ambiente, es decir, que están embrionados desde el momento mismo en que son expulsados del cuerpo del huésped o poco después, tiene grandes posibilidades de infectar a la misma población de huéspedes generación tras generación de sus infrapoblaciones de parásitos y generación tras generación de la población de huéspedes. Probablemente aquellos parásitos que posean esta adaptación establecerán una relación cada vez más estrecha con sus huéspedes y por ende se irán haciendo más especie específicos, lo que redundará también en que su tipo de transmisión, en lo que respecta a su estructura genética poblacional y su filogenia sea, en relación a la de su huésped, análoga o al menos tendiente a parecerse a una transmisión de tipo vertical.

III. Modo de infección.

Aquellos parásitos cuyo modo de infección es más directo tienen más posibilidades de infectar una y otra vez a la misma población y de establecer, por ende, una continuidad poblacional dentro de sus huéspedes. Por infección directa entendemos aquí que el agente infeccioso es el parásito en sí, ya sean sus huevos o sus larvas infectantes, mientras que por infección indirecta entenderemos aquellos modos de infección que implican el consumo de otros animales, vectores o huéspedes intermediarios, donde se han desarrollado los diferentes estados del parásito, de manera que el agente infeccioso para el hombre no es la larva infectante propiamente dicha. En estos últimos casos, como ocurre con *Diphyllobothrium*, el ser humano se encuentra frecuentemente en la posición de un huésped accidental.

IV. Número y especificidad de huéspedes.

La existencia de huéspedes intermediarios es un claro indicador de la escasa especificidad de un parásito, en relación a una especie de huésped pero también en relación a un grupo particular de huéspedes dentro de una misma especie en un contexto histórico y geográfico dado. Si el parásito debe desarrollar los diferentes estadios de su ciclo biológico en diferentes animales el rango geográfico en que se desarrolla este ciclo será tan grande como la suma de los rangos geográficos en que se desarrollan las vidas de sus huéspedes intermediarios y definitivos. Así, un parásito que deba necesariamente pasar por huéspedes intermediarios para completar su desarrollo en la mayoría de los contextos naturales no tendrá forma de asegurar una continuidad poblacional respecto a sus huéspedes definitivos,

lo cual va en sentido opuesto a una transmisión de tipo vertical e impide el empleo del helminto como marcador biológico. Un parásito que pueda rotar por diferentes especies de huéspedes definitivos tampoco es útil en este sentido, ya que establece una transmisión horizontal tan laxa que su rastro genealógico tenderá a una dispersión inabarcable. En cambio, aquellos parásitos cuyo huésped definitivo son exclusivamente los seres humanos pueden aportar interesantes datos sobre la historia demográfica de ellos, aunque su patrón de transmisión sea estrictamente horizontal, y si a ello se suma que en general aquellos parásitos que establecen una mayor especificidad de especie de huésped definitivo no necesitan pasar por etapas en huéspedes intermediarios, el espectro geográfico de acción del parásito virtualmente se cierra sobre la población humana en que su metapoblación habita. Un ejemplo de este último tipo de parásito es *Ancylostoma sp.*, el cual si bien no presenta una relación demasiado estrecha con su comunidad de huéspedes particular, el hecho de que por otra parte ostente una relación huésped – parásito firmemente articulada y exclusiva en términos de especie permite que bajo ciertos contextos se presente como un buen marcador biológico. Por ejemplo, una paleogenética de poblaciones desarrollada sobre las evidencias paleoparasitológicas de este helminto en América, dado el asilamiento respecto a las cepas asiáticas, permitiría conocer cuántas veces llegó el parásito y de dónde provino en cada una de esas oportunidades, es decir, permitiría conocer qué grupos humanos arribaron a América por rutas diferentes a Beringia, siempre y cuando hayan portado este parásito, aunque estos grupos se hayan extinto sin dejar otra evidencias de su paso por el continente que sus excretas plagadas de huevos de helmintos o dejando evidencias difíciles de detectar por otros medios.

La *tabla n°1* resume los cuatro factores mencionados de acuerdo a los antecedentes ya discutidos en capítulos previos sobre los parásitos comprendidos en este estudio.

Tabla 1. Características de los ciclos biológicos de los helmintos analizados que inciden en su utilidad como marcadores biológicos.

<i>Helminto</i>	<i>Tipo de transmisión</i>	<i>Desarrollo de huevos al salir al exterior</i>	<i>Modo de infección</i>	<i>Huésped (es) intermediario</i>	<i>Especificidad del huésped definitivo</i>
<i>N. americanus</i> / <i>A. duodenale</i>	Horizontal	No embrionados, requieren completar etapa en el suelo	Directo. penetración de la piel por las larvas	No	Específico del ser humano
<i>T. trichiura</i>	Horizontal	No embrionados, requieren completar etapa en el suelo	Directo. Ingestión de los huevos embrionados	No	Casi específico del ser humano
<i>E. vermicularis</i>	Horizontal (analogable a vertical)	Embrionados, inmediatamente infectantes	Directo. Ingestión de huevos embrionados	No	Específico del ser humano
<i>Trichostrongylus sp.</i>	Horizontal	No embrionados, requieren completar etapa en el suelo	Directo. Ingestión de larvas	No	No específico. Muchos posibles huéspedes definitivos
<i>Paragonimus sp.</i>	Horizontal	No embrionados, requieren completar etapa en agua dulce	Indirecto. Ingestión de quistes en 2° huésped intermediario	2 huéspedes intermediarios	No específico. Varios posibles huéspedes definitivos
<i>Diphyllobothrium sp.</i>	Horizontal	No embrionados, requieren completar etapa en el agua	Indirecto. Ingestión de quistes en 2° huésped intermediario	2 huéspedes intermediarios	No específico. Varios posibles huéspedes definitivos
<i>H. nana</i>	Horizontal (parcialmente analogable a vertical)	Embrionados, inmediatamente infectantes	Directo. Ingestión de huevos embrionados	Sí, pero el huésped intermediario no es indispensable	No específico. Puede ser el ser humano o un roedor

Hay un quinto factor que resulta importante al describir la solidez de la relación huésped – parásito: la vía por la que los huevos alcanzan el exterior. Este factor es importante (aunque menos que los otros) ya que el mecanismo en que los huevos se diseminan (en general, a través de las heces) está directamente relacionado con la posibilidad de infectar a nuevos huéspedes. Todos los parásitos aquí descritos expulsan sus huevos dentro de los intestinos, los que salen al medio a través de las deposiciones humanas, con la sola excepción de *Enterobius vermicularis*, que como ya hemos descrito, expulsa sus huevos directamente al exterior. Esta estrategia resulta bastante redituable, ya que mediante ella el parásito se asegura que sus huevos estén en un ambiente inmediatamente próximo a sus huéspedes, lo cual es imposible de aseverar cuando los agentes infecciosos son depositados junto con las excretas (lo que se aprecia claramente en la importancia capital que los cambios en las costumbres respecto a las deposiciones han tenido en la erradicación de estas enfermedades). Esto también tiene una estrecha vinculación con la analogía realizada para la forma de transmisión propia de este parásito, ya que al depositar los huevos en la región perineal de sus huéspedes, son frecuentes las reinfecciones y el grueso de los nuevos huéspedes, si es que no todos, se contagian en el grupo más estrechamente vinculado al primer huésped, probablemente dentro de su familia, de modo que el flujo génico con otras metapoblaciones tiende a reducirse estableciendo probablemente en algunos niveles aislamientos relativos que podrían permitir la construcción de filogenias informativas de los parásitos que también nos hablarían de las vinculaciones entre sus huéspedes.

8.3. COMPARACIÓN ENTRE LOS HELMINTOS DESCRITOS Y DETERMINACIÓN DEL HELMINTO MÁS APROPIADO PARA LA APROXIMACIÓN

Como hemos discutido, el potencial como marcadores biológicos de estos helmintos difiere en virtud de su vinculación más o menos próxima con sus huéspedes humanos. Claramente, luego de todo lo ya señalado para cada especie y género en particular, algunos de estos parásitos aparecen como más susceptibles de ser objetos de una aproximación molecular en busca del correlato oculto de la historia de sus huéspedes.

Ya que a ciertas escalas de tiempo reducidas la acumulación de polimorfismos en el genoma humano es demasiado baja para realizar inferencias filogenéticas con los marcadores tradicionalmente usados, la posibilidad de que existan parásitos estrechamente relacionados, con “tendencias coevolutivas” respecto a sus huéspedes humanos, y que presentan tasas de evolución superiores a las de estos, es una alternativa interesante a explorar con detenimiento.

Para determinar sobre qué helminto vale la pena realizar una aproximación paleogenética que vaya en la dirección propuesta, y determinar las preguntas filogenéticas que podrían responder, los niveles filogenéticos sobre los que sería posible abocarse y las limitaciones que cada parásito y cada enfoque tendrían, hay que tener presentes los aspectos descritos en los capítulos anteriores que se resumen en la tabla n°1. A la luz de esos datos, podemos descartar a *Trichostrongylus sp.*, debido a su tipo de transmisión, estrictamente horizontal, al grado de desarrollo de sus huevos al alcanzar el exterior, los que requieren una etapa en el suelo, y principalmente por no ser especie específico y poder parasitar a múltiples huéspedes. A esto se suma el escaso número de reportes de este parásito en el registro arqueológico chileno, consistente en dos presuntos hallazgos informados sucintamente a partir de análisis de muestras albergadas en una colección (Gonçalves et al., 2003); descartaremos también a *Paragonimus sp.* debido a

que su tipo de transmisión es horizontal, sus huevos requieren pasar por una etapa acuática para volverse infectantes, y lo más importante, porque presenta dos huéspedes intermediarios y varios posibles huéspedes definitivos, es decir, en su ciclo biológico el ser humano es un huésped accidental, de modo que resulta un parásito muy poco o nada informativo de la historia natural humana; *Diphyllobothrium sp.* también será descartado en tanto comparte las mismas características que *Paragonimus*; los motivos para omitir a *Hymenolepis nana* del análisis, a pesar de las interesantes características que discutimos en el capítulo anterior relativas a su tipo de transmisión y a su modo de infección, son su no especificidad, pudiendo pasar fácilmente a huéspedes roedores (por lo que cualquier estudio que asumiera que *H. nana* se ha mantenido aislado infestando a una población humana tendría la difícil tarea de demostrar la ausencia de comensales roedores para dicho grupo o en zonas allegadas), y por el escaso conocimiento que se tiene del parásito, tanto en términos parasitológicos y genéticos, como de acuerdo a la paleoparasitología y arqueología, ya que como vimos sólo existen dos reportes precolombinos de este parásito en América.

Descartados esos helmintos, nos queda por analizar las cuatro especies que aparecen como más idóneas para su uso como marcadores biológicos: *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* y el conjunto, hasta ahora inseparable, de *A. duodenale* / *N. americanus*.

Enterobius vermicularis es una especie cuya profunda vinculación con los grupos humanos que parasita la hace ideal para, mediante la genética de poblaciones, indagar en la relación histórica entre dos poblaciones humanas actuales aisladas o, mediante la paleogenética, investigar la dispersión de grupos humanos del pasado. En casos como el de este helminto, a través del empleo de su información genética se pueden extraer inferencias respecto de la filogenia de sus huéspedes, inferencia que serán confiables en tanto hemos estimado que las características de la transmisión del parásito son comprobables a una transmisión vertical, generando un reducción del flujo génico entre

metapoblaciones. Mediante la secuenciación del DNA antiguo de parásitos obtenidos de restos momificados se podrían llegar a establecer las distancias biológicas entre infrapoblaciones y metapoblaciones de parásitos para conocer la historia de sus huéspedes e indagar en torno a contactos y vínculos humanos que no sea posible pesquisar con otras herramientas moleculares, o para aportar y contrastar hipótesis respecto a eventos demográficos de la antigüedad.

Sin embargo, este parásito plantea dos problemas, uno de carácter metodológico y otro de carácter práctico. Por un lado, el hecho de que su hallazgo en contextos arqueológicos represente probablemente fenómenos de sobreinfestación, es decir, que en general se trate de una patología subrepresentada en el registro, establece una dificultad adicional para su estudio epidemiológico, cuya solución requeriría de la construcción de modelos que permitieran acotar las distorsiones que ese fenómeno podría provocar en las muestras, ya que cabe la posibilidad de que el comportamiento evolutivo de una metapoblación de *E. vermicularis* bajo las presiones demográficas de una hiperinfestación no se ajuste a las condiciones normales que nos han permitido suponer que su filogenia sería analogable a la de una infección con un tipo de transmisión vertical.

El segundo elemento que nos disuade de realizar una aproximación sobre este parásito es la escasez de secuencias descritas en la bibliografía y albergadas en las bases de datos. Este es un criterio práctico ineludible para la elección del helminto en el que enfocaremos nuestro estudio, ya que mientras mejor descrito esté en términos moleculares uno de estos parásitos, más abarcable es su estudio, siendo posible ajustar mejor las preguntas filogenéticas a realizar a las características de la relación parásito – huésped. Para *E. vermicularis* sólo han sido secuenciados parcialmente un par de genes nucleares, y ese fue uno de los factores que nos llevó a descartarlo, a pesar de tratarse de un parásito que propone interesantes líneas de investigación, pero que deberán esperar a contar con las secuencias necesarias.

Trichuris trichura es quizá el geohelminto más interesante del conjunto, ya que planteando los mismos problemas que se han debatido largamente en el caso de las uncinarias relativos a su vía de ingreso al continente, presenta la notable característica de precisar un contacto más estrecho entre sus huéspedes para poder transmitirse. Sin embargo, será descartado de nuestro análisis en atención a su probable interespecificidad, lo que abre las posibilidades de cambios de huéspedes y de flujo genético entre sus metapoblaciones.

Es la especificidad comprobada de las uncinarias, *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, respecto al ser humano, el primer factor que las señala como apropiadas para emprender su estudio como probables marcadores biológicos. *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus* se caracterizan por un tipo de transmisión horizontal en la que no interfiere ningún vector o huésped intermediario. La especificidad de huésped que se ha observado presenta este parásito es tal que su hallazgo señala claramente la presencia de seres humanos. Esto nos sugiere además una larga historia evolutiva compartida. Su prevalencia depende, por otra lado, fuertemente de las condiciones ambientales (por lo que de haber atravesado las zonas árticas en su transcurso hacia América se puede estimar que existió un importante cuello de botella, de manera que su variabilidad en América debe ser muy reducida) y de condiciones sociales y culturales, incrementándose claramente en condiciones de hacinamiento y reduciéndose o desapareciendo gracias a cambios conductuales tan sencillos como el uso de calzado o el control en el depósito de las excretas.

Como ya hemos discutido, dadas sus características, la presencia de *hookworm* en América precolombina plantea interesantes interrogantes, debido a su improbabilidad. El hecho es que el aislamiento relativo de las poblaciones de uncinarias americanas respecto a las poblaciones asiáticas nos puede permitir construir árboles filogenéticos que tracen el curso de la infección (y por lo tanto de sus huéspedes) ahí donde

carecemos de evidencias biológicas directas del ser humanos, o para escalas temporales donde los marcadores usados en el ser humano no son informativas.

Intracontinentalmente, podemos postular que el flujo génico de las uncinarias se incrementó en la medida que la demografía de sus huéspedes lo hacía, de manera que mientras más atrás nos remontemos y los grupos permanezcan relativamente aislados unos de otros, podemos esperar una mayor identidad entre los árboles filogenéticos de este helminto y sus huéspedes humanos, aun considerando que su transmisión es horizontal.

Hipotéticamente hablando, si tenemos un grupo humano original que cruzó desde Siberia hacia América, quedando aislado de sus contemporáneos asiáticos, grupo que si seguimos a Hey (2005) podría haber sido inferior a 80 individuos (en términos de población efectiva), y este grupo transportó consigo una metapoblación de *Necator americanus*, el parásito y sus huéspedes se transformaron en un conjunto aislado sincrónicamente respecto a sus pares asiáticos. El pool genético de *N. americanus*, habiendo sufrido un cuello de botella determinante, se transmitió exclusivamente dentro del pequeño grupo humano fundador. Ahora bien, no se puede establecer que haya un proceso coevolutivo propiamente tal entre uncinarias y seres humanos; Aun está pendiente una comparación de las topologías filogenéticas para esta pareja de especies y bajo diferentes escenarios evolutivos para poder discriminar la naturaleza precisa de su relación interespecífica. Probablemente en términos macropoblacionales, dada la antigüedad y especificidad de la vinculación entre seres humanos y uncinarias, exista una “tendencia coevolutiva”. Sin embargo esta red filogenética sería difícil, si es que no imposible, de develar. En lo que respecta a poblaciones, comprobar las asociaciones intersepecíficas no es una tarea sencilla, sin embargo aun sin realizar dichas inferencias, en el caso de las uncinarias y los primeros pobladores americanos se aprecia que sólo atendiendo a las características más visibles de su historia natural, ya pueden aportarnos datos interesantes. Por ejemplo, siguiendo con la hipotética población propuesta, en el

caso de que esta se separara dicotómicamente en dos grupos y cada uno cargara con una parte de la metapoblación de *Necator americanus*, y postulando por otra parte que, dado el rápido curso que tuvo el poblamiento del continente y la diversidad cultural y biológica que produjo, lo más probable es que los grupos escindidos se aislaran rápidamente unos de otros, la situación de ambas metapoblaciones del parásito, en tanto que grupos aislados entre sí e imposibilitados a su vez de establecer flujos génicos con su población ancestral, hipotéticamente podría informarnos respecto al momento preciso de la separación de los grupos humanos, previa calibración de un reloj molecular adecuado y mediante el análisis de su variación genética. Y cuando consideramos la frecuencia con que el material paleoparasitológico de este geohelminto aparece en la arqueología, esta clase de elucubraciones merecen ser tenidas en consideración y esta clase de datos merecen ser atendidos.

8.4. SUMARIO

Seleccionaremos como principal objeto de estudio a la uncinaria *Necator americanus* y de forma secundaria a su especie hermana, *Ancylostoma duodenale*. La selección se ha realizado luego de la investigación sintetizada en los capítulos anteriores y en base a los siguientes aspectos:

- 1) *N. americanus* y *A. duodenale* son especies que han sido descritas con frecuencia en contextos americanos precolombinos. Esto ya fue tratado con detalle en capítulo quinto.

- 2) Ambas especies cuentan con registro en sitios chilenos precolombinos.

- 3) Ambas especies son parásitos altamente *huésped específicos* (Loukas y Prociw, 2001), exclusivos del ser humano, es decir, su único “medio de transporte” está asociado a nuestra especie. Esto lo discutimos con mayor detalle en los capítulos 6° y 7°.
- 4) La anquilostomiasis o uncinariasis es considerada la infección parasitaria más extendida sobre la humanidad en la actualidad (Hotez et al., 2005), y no hay razones para suponer que esa condición fue radicalmente diferente en el pasado.

Este es un factor relevante en la selección del parásito ya que nos indica que podemos esperar una frecuencia y una distribución significativa, cuestión que es central cuando estamos tratando con materiales antiguos, de carácter arqueológico o bioantropológico, es decir, con material extraordinario y fragmentario. La expresión material que tenemos del pasado es una función estadística de la popularidad de ciertos animales, plantas y objetos en el pasado, es decir, es esperable encontrar los más comunes y no encontrar los menos comunes. En este sentido una aproximación a un parásito extraño y cuya dispersión sea muy limitada no sería apropiada para tratar fenómenos de amplio rango temporal y espacial.

- 5) La historia coevolutiva de ambas uncinarias y el ser humano se remontaría probablemente al origen del linaje, e incluso más atrás en el pasado. Particularmente, en el caso de *N. americanus* se ha postulado una relación simbiótica altamente estrecha que podría ser indicador de una larga historia de coevolución.

Debido a la relativamente asintomática naturaleza de la infección que provoca, se ha propuesto que *Necator americanus* ha desarrollado una simbiosis mutualista con el ser humano, implicando que en determinadas circunstancias inmunológicas el huésped se podría beneficiar de la presencia del parásito (Pritchard y Brown, 2001). Estudios

clínicos han comprobado que, por ejemplo, *N. americanus* tiene un efecto en los niveles de hierro inferiores a los de *A. duodenale*, parásito que puede producir descensos importantes en los niveles de hemoglobina y ferritina en los niños (la prevalencia de anemia en los niños en una región endémica para las dos especies fue de un 60,5% en aquellos que sólo presentaban infestación por *N. americanus* y de 80,6% en los que presentaban infestación conjunta con *A. duodenale* sobre un 50%, según el estudio de Albonico y colaboradores, 1998).

- 6) Ya se han propuesto hipótesis en torno a la historia natural de las uncinarias que buscan describir eventos de la historia natural de sus huéspedes humanos, por lo que sería interesante presentar nuevas aproximaciones para ampliar y contrastar dichas líneas de investigación.

Como vimos en los capítulos anteriores, ambas especies debido a sus particulares ciclos biológicos como geohelminintos, han sido objeto de interesantes elucubraciones hipotético deductivas desde mediados del siglo XX relacionadas con el poblamiento humano sobre América. Este grado de avance en las investigaciones en torno al parásito también nos pareció un factor relevante al considerar la ejecución de una aproximación molecular a un helminto.

- 7) *N. americanus* y *A. duodenale* son dos de las pocas especies de nemátodos parasitarios del ser humano cuyos genomas mitocondriales han sido secuenciados completamente.

Un factor ineludible de consideración fue el hecho de que el genoma mitocondrial completo, tanto de *Necator americanus* como de *Ancylostoma duodenale*, ha sido secuenciado, descrito y publicado. De los parásitos descritos en este estudio, solamente las uncinarias cuentan con un buen número de secuencias completamente dilucidadas.

Para otros helmintos considerados en este estudio existen sólo algunos pocos genes nucleares y mitocondriales cuyas secuencias, al ser blanco de algunos estudios incipientes, han sido desentrañadas. Otros genomas mitocondriales completos han sido secuenciados para helmintos, en particular para nemátodos, sin embargo en la mayoría de los casos se trata de especies de vida libre, como *C. elegans* (el primer animal cuyo genoma fue secuenciado por completo) o *H. bacteriophora* (usado extensamente en el control de plagas de insectos), o especies que parasitan principalmente a otros animales o que no se encuentran en el registro arqueológico chileno, como *A. suum*.

9. HACIA UNA APROXIMACIÓN AL DNA ANTIGUO DE LAS UNCINARIAS HUMANAS

9.1. PRESENTACIÓN

En este capítulo se definirá el tipo de genoma y las secuencia que se propone utilizar dentro de los dos parásitos seleccionados según resulten más apropiadas para realizar comparaciones entre géneros, especies y, sobre todo, poblaciones, en pos de determinar tiempos de divergencia acotados y estructuras microevolutivas que permitan eventualmente hacer extrapolaciones en términos de la filogeografía de sus huéspedes humanos.

Para esto, en primer lugar, realizaremos un pequeño acápite introductorio respecto a la metodología que emplearemos, las técnicas que proponemos sean usadas y sus fundamentos. Posteriormente justificaremos la selección del genoma mitocondrial como objetivo de nuestro análisis, así como determinaremos los genes sobre los que propondremos la producción de partidores específicos, cuyos objetivos en tanto que marcadores moleculares serán detallados y discutidos en la sección final de este capítulo.

9.2. HERRAMIENTAS PARA EL ANÁLISIS DE DNA ANTIGUO

La capacidad de extraer y analizar DNA provenientes de restos antiguos está fundada en técnicas cuya historia dentro de la ciencia es relativamente corta. El primer DNA antiguo o secuencia de aDNA (*ancient DNA*) reportado provino del quagga, un miembro de la familia de los caballos y las cebras extinto hace más de un siglo (Higuchi et al.,

1984, en Avise, 2004), seguido al año siguiente por el reporte de la primera secuencia antigua de DNA humano (Pääbo, 1985, en O'Rourke et al., 2000). En los años siguientes se produjeron varios estudios de casos de este tipo, pero las investigaciones iniciales estuvieron limitadas de forma determinante por la naturaleza degradada y fragmentaria del DNA antiguo, mayormente resultado de procesos hidrolíticos y oxidativos que actúan postmortem (Pääbo et al., 2004).

Sin embargo, a pesar de que dichas limitaciones son inherentes a la clase de material que es preciso emplear en esta clase de aproximaciones, desde la década de 1990 se comenzaron a suceder una serie de avances en las técnicas de biología molecular que han expandido los horizontes de la bioantropología, la paleopatología y de la paleoparasitología. Estos campos de estudio fueron revolucionados sobre todo (como la genética molecular en general) por la invención y desarrollo de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR, *Polimerasa Chain Reaction*), proceso que permite la producción de millones de copias de fragmentos cortos de DNA “in vitro” (Mullis y Faloona, 1987, en Avise, 2004). Esta técnica incrementó de forma exponencial nuestra habilidad para generar marcadores genéticos confiables y reproducibles, y su desarrollo ha sido tan determinante para la biología molecular y genética en su convergencia con múltiples áreas científicas, que el creador de la técnica, el norteamericano Kary Mullis, se hizo merecedor en 1993 del premio Nobel de química.

9.2.1. Reacción en Cadena de Polimerasa

La Reacción en Cadena de la Polimerasa, PCR, es un procedimiento consistente en la amplificación de una pequeña secuencia de nucleótidos. Esta amplificación o producción de múltiples copias se desarrolla en tres pasos principales: primero, se desnaturaliza la doble cadena de DNA mediante el incremento de la temperatura. Segundo, se induce el

apareamiento o hibridación de los *primers* (partidores, iniciadores o cebadores) en los extremos de la región que será amplificada. Esto se logra bajando la temperatura hasta un punto calculado previamente de acuerdo a las características de los partidores. Esta temperatura es conocida como *annealing temperature*, algunas veces traducido como temperatura de apareamiento (T_a). Tercero, incrementando nuevamente la temperatura hasta alcanzar el punto de activación de la polimerasa, se promueve la síntesis de una nueva cadena de nucleótidos, complementaria a la secuencia molde, por medio de la extensión o elongación de la cadena a partir de los *primers*; las cadenas complementarias a la región que flaquean éstos es sintetizada por una enzima DNA polimerasa termoestable, en general una conocida como *Taq*, debido a su origen, una bacteria termófila cuyo metabolismo está adaptado a un medio de entre 50° y 80° grados Celsius llamada *Thermus aquaticus* (Avisé, 2004). Ésta presenta su máximo de actividad a los 72° C. Estos tres pasos son repetidos 20 o más veces consecutivas, dependiendo de la cantidad de copias de la secuencia blanco que se espere producir, dentro de *termocicladores* automáticos.

Una de las ventajas fundamentales del PCR es que permite la recuperación de muestras utilizables incluso a partir de pequeñas cantidades de material biológico. Mucho más sensible que el examen directo, el uso de la técnica de PCR y sus variantes han permitido el diagnóstico de infecciones parasitarias en material antiguo que antes eran indetectables por los métodos de microscopía óptica, así como la construcción de filogenias y genealogías cada vez más confiables.

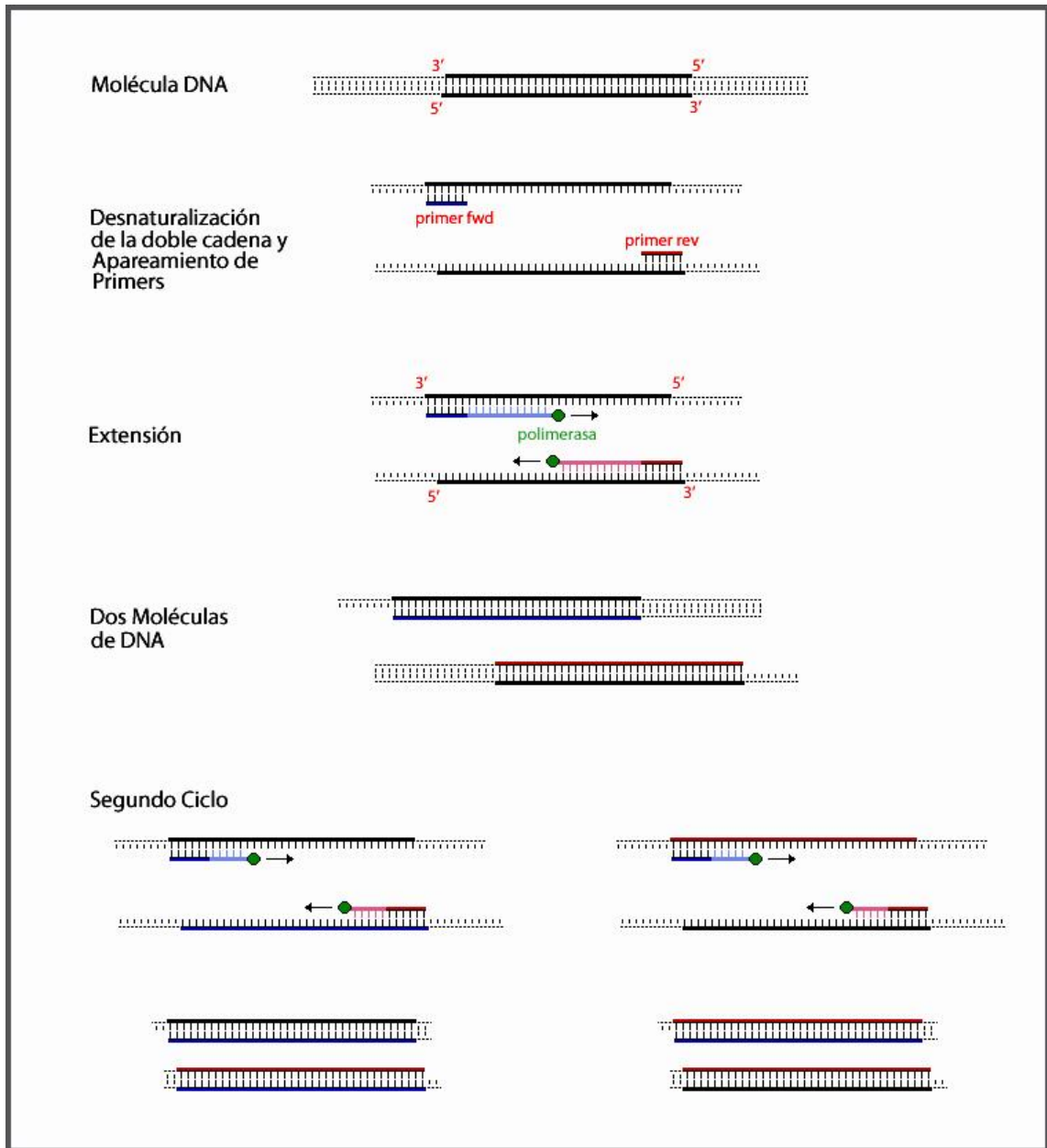


Figura 2. Esquema de PCR.

Aunque algunos estudios tempranos pretendieron haber recuperado DNA desde restos de millones de años de antigüedad, investigaciones recientes han demostrado que estos resultados se debieron a la contaminación de las muestras por fuentes modernas de

DNA. Todo indica que el DNA no puede conservarse mucho más allá de los 130.000 años, incluso bajo las mejores circunstancias (Kaestle y Horsburgh, 2002).

Los fragmentos de DNA que se amplifican en un procedimiento de PCR son comúnmente de unos pocos cientos de pares de bases hasta alrededor de 1 kb de longitud. Sin embargo, cuando se trata de DNA antiguo hay que considerar fragmentos bastante pequeños debido a la degradación y fragmentación esperable de las secuencias. Siguiendo a O'Rourke et al. (2000) la recuperación y amplificación de DNA antiguo, cuando es posible, comúnmente está limitada a fragmentos de menos de 300-500 pb de longitud. Así es que el PCR de DNA antiguo o degradado sólo permite amplificar pequeños fragmentos debido a que el molde (o diana) mismo de DNA está compuesto sólo por pequeños fragmentos. La cantidad de producto amplificado será limitada comparada con las obtenidas en reacciones similares sobre DNA moderno. Esto implica que si sobre un DNA degradado se generan productos mayores en un PCR (>400 pb), entonces es posible sugerir que el DNA molde estuvo, al menos parcialmente, contaminado. Sin embargo se ha demostrado que la amplificación de fragmentos de DNA mayores que la longitud del molde pueden corresponder en algunos casos a amplificaciones auténticas (Golenberg, 1996).

El grado de fidelidad de la amplificación a través de PCR es un problema a tener en consideración. Cualquier falla en la incorporación de nucleótidos durante el proceso, especialmente en las primeras rondas de amplificación, puede dar como resultado la replicación de secuencias que difieren del molde original. Si la muestra inicial es pequeña, es decir si el número de copias del molde de DNA es bajo (<100), los errores en el PCR pueden acumularse de tal manera que alcancen cantidades sustanciales en el producto final de la amplificación (O'Rourke et al., 2000). Y mientras más ciclos tenga el proceso, mientras más copias de la secuencia se pretenda producir, mayor será la divergencia entre la secuencia molde y el producto obtenido finalmente en caso de que haya existido algún error en la replicación, y esta divergencia puede conducir a interpretaciones erróneas de los datos.

Quizá la dificultad más seria del PCR es su extrema sensibilidad. La contaminación de las muestras puede producir fácilmente la amplificación de moléculas de DNA diferentes a las que se busca, lo que ocasionalmente puede dar como resultado serios errores de interpretación al no ser detectada la falencia. Se han propuesto una serie de criterios de autenticidad que permitirían evitar o detectar la mayoría de los problemas originados por la contaminación con DNA exógeno (Pääbo et al.,2004).

9.2.2. Partidores o *Primers*

Los *primers* o partidores (también llamados iniciadores o partidores) empleados para dar comienzo a cualquier PCR son oligonucleótidos de secuencias cortas (de entre 18 y 30 nucleótidos de longitud) que exhiben una alta similaridad con las regiones que flanquean la secuencia a amplificar, sobre todo en el extremo 3' (Avisé, 2004), que es donde se inicia la reacción de la polimerasa. Para cada proceso de PCR se emplean dos partidores, uno que se acopla al extremo 3' y otro que se acopla al extremo 5' de la secuencia blanco. Entre ambos debe existir cierta equivalencia, ser de tamaños comparables y presentar una temperatura de activación (T_m ; temperatura de fusión o *melting*) similar. La temperatura de fusión de un primer con su cadena complementaria blanco está determinada por su longitud y por su contenido de G+C. Una pareja ideal de partidores debería presentar temperaturas de fusión de entre 52° y 65° C, pero hasta 80° C es aun convencional para algunos procesos, aunque los partidores con T_m superiores a 65° presentan una tendencia a apareamientos secundarios. Si la temperatura a la que trabajan ambos partidores difieren demasiado, es probable que el PCR falle. La T_a suele fijarse unos 5° C bajo la T_m .

Por otro lado, el partidador debe ser lo suficientemente complejo para evitar hacer blanco en una secuencia ubicada en un sitio diferente al escogido. El riesgo de que esto ocurra es inversamente proporcional a la longitud del partidador. Así, una secuencia cualquiera (determinada aleatoriamente) de 16 pb se puede encontrar estadísticamente sólo una vez cada 4^{16} bases; ésta es aproximadamente la medida del genoma humano. Por lo tanto, una secuencia que tenga sobre 17 pb es un blanco bastante específico para realizar el procedimiento de forma exitosa. Sin embargo, un primer demasiado largo puede presentar problemas para aparearse exitosamente con su DNA molde. Por otro lado, se deben evitar las secuencias repetitivas, por ejemplo, una larga cadena de un solo nucleótido, y buscar las regiones con una distribución más heterogénea de bases. Los segmentos “poli T” o “poli A” pueden producir “huecos” que desarmen el complejo partidador-molde. Otro punto a considerar es que se deben evitar secuencias demasiado “pegajosas” en el extremo 3’ (sobre todo), es decir, secuencias con alto contenido de G/C (3 o más C o G en esa región), ya que podrían provocar el apareamiento entre cadenas no complementarias. Hay que evitar los partidores con segmentos “poli C” o “poli G”, ya que promueven hibridaciones no específicas. En los protocolos convencionales de PCR, el contenido de G+C de los partidores debe ser del orden de alrededor de un 45-60%, lo que se traduce en temperaturas de fusión como las descritas. Es importante evitar los partidores constituidos por secuencias autocomplementarias u homólogas, para impedir la formación de estructuras secundarias o de doble cadena parciales en la molécula misma, o las interacciones *primer-primer* como la formación de dímeros que interferirían con el PCR.

Algunos partidores presentan una gran latitud taxonómica, lo que implica que producen amplificaciones exitosas no sólo en el DNA para el que fueron diseñados sino también en DNA homólogos entre grupos taxonómicos amplios. Otros *primers* de PCR más específicos funcionan sólo dentro de las especies blanco o sólo en los genomas de sus parientes más próximos. Tener en cuenta estos aspectos es esencial al momento de seleccionar un partidador apropiado para una investigación dada.

9.3. HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS

El enorme volumen de información que ha traído consigo la “revolución molecular”, el explosivo avance de las herramientas y técnicas en biología molecular y genética, con la develación de una multitud de enormes secuencias de DNA, habría sido totalmente inmanejable e inútil de no ser por el desarrollo paralelo de la informática, que permite entre otras cosas lidiar con el acúmulo de datos en constante crecimiento, encontrar las secuencias buscadas con una celeridad hasta hace poco impensable, comparar estas secuencias por extensas que sean, producir modelos estadísticos, aplicar algoritmos buscando diferentes patrones y desarrollar simulaciones de la evolución de los genomas, a todo lo cual se suma la democratización y globalización del conocimiento que estas herramientas traen aparejados. En la actualidad las proteínas, los genes y los genomas secuenciados se encuentran albergados en bases de datos disponibles de manera libre a través de internet y su análisis es posible en muchos casos realizarlo a través de aplicaciones también disponibles en línea (por ejemplo, BLAST, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) o gracias a softwares gratuitos (y en algunos casos también libres) que es dable descargar. Para algunas aproximaciones existen programas más sofisticados de pago y privativos, pero un estudio como el propuesto aquí es perfectamente abordable desde dos de los software más tradicionales para el manejo de secuencias, MEGA (<http://www.megasoftware.net/>) y ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/index.html>). En este caso también se empleó un programa de simulación de PCR para probar los partidores diseñados llamado amplifiX (<http://ifrjr.nord.univ-mrs.fr/AmplifX>) y la aplicación en línea Netprimer (<http://www.premierbiosoft.com/netprimer/>) para analizar las posibles estructuras secundarias e interacciones entre los partidores.

Actualmente las bases de datos contienen un gran número de secuencias, y crecen de forma exponencial. Por ejemplo, en Genbank ya hay albergados más de 100.000 millones de bases (nucleótidos), correspondientes a más de 61 millones de secuencias. Y

este número se incrementa día tras día sin pausa. En lo que respecta a los helmintos, y en particular a los nemátodos, se han incrementado de forma importante las secuencias dilucidadas de diferentes especies. Si para el 2003 existían sólo 4 genomas mitocondriales completos de nemátodos (*A. suum*, *O. volvulus*, *T. spiralis* y *C. elegans*), en el año 2007 las bases de datos registran más de 12 genomas mitocondriales completamente dilucidados, incluidos los de *N. americanus* y *A. duodenale*.

La forma de trabajar con las bases de datos es encontrar, bien mediante el motor de búsqueda interno de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) o accediendo directamente a través de los números de referencia en los artículos publicados, a las secuencias nucleotídicas (también es posible acceder a bases de datos de proteínas) de los genomas o genes que nos interesan. Una vez conocidas o seleccionadas las regiones que nos resultan útiles para nuestra aproximación, mediante el programa ClustalW (en este caso) alineamos las secuencias nucleotídicas de los diferentes organismos que queremos comparar. A partir de este alineamiento, y posteriormente a su evaluación, es que se determinarán los partidores que propondremos para la realización de Reacciones en Cadena de Polimerasa específicas para trabajar con determinadas hipótesis de acuerdo a los problemas que nos plantearemos desde la bioantropología.

El alineamiento de secuencias es probablemente la herramienta bioinformática más usada. Un alineamiento de secuencias es una forma de mostrar secuencias de nucleótidos o aminoácidos resaltando las regiones similares, las que se supone implicarían relaciones evolutivas o funcionales entre los genes o proteínas. Un alineamiento múltiple es el alineamiento de más de dos secuencias. Las diferencias entre las secuencias alineadas pueden interpretarse como mutaciones y los espacios como deleciones o el resultado de inserciones ocurridas en el genoma durante la historia separada de los linajes desde su divergencia. El objetivo que perseguimos es el de encontrar el alineamiento que maximice el parecido. Consideraremos que ese alineamiento es el que con mayor probabilidad refleja los cambios que se han producido a lo largo de la evolución, aunque

no consideraremos que sea el mejor alineamiento absoluto. De esta manera, al poder analizar las diferencias más claras y distintas entre los genes, es posible establecer sus relaciones de forma más confiable. Establecidas las relaciones entre los parásitos a diferentes escalas temporales y geográficas, podemos comenzar a plantear hipótesis experimentales para el desarrollo de líneas de investigación que den cuenta, mediante las relaciones entre los genomas parasitarios y los de sus huéspedes, de los movimientos de las poblaciones humanas en el pasado. Pero en un sentido más inmediato, conocer las secuencias, establecer marcadores y diseñar partidores para los genomas de parásitos que podemos encontrar en el registro arqueológico y en los restos orgánicos de origen humano permitirá en primer lugar afinar nuestros análisis ecológicos del pasado, proponer y aportar antecedentes para sustentar hipótesis respecto a las conductas higiénicas y las características epidemiológicas de las sociedades antiguas, y en general indagar en toda la serie de datos que la paleoparasitología puede aportar, como ya hemos referido en capítulos previos.

9.4. RESULTADOS

Ya seleccionados los parásitos sobre los que propondremos nuestro modelo de investigación y presentados los argumentos que los señalan como las especies idóneas, los pasos a seguir son determinar el genoma (nuclear u organelar) sobre el que se hará la aproximación, determinar las regiones o genes de dicho genoma que resulten idóneos para diferentes objetivos y definir los partidores que nos permitirían abordar eventuales análisis moleculares sobre material antiguo, todo esto en vista de (1) comprobar la presencia de helmintos en una muestra dada, (2) delimitar la adscripción de esos helmintos a un grupo más acotado, en este caso al de las uncinarias humanas, (3) generar un marcador que permita diferenciar entre las dos especies de uncinarias que infectan al ser humano desde la antigüedad, *N. americanus* y *A. duodenale*, y (4) a partir de este

diagnóstico diferencial, aun no conseguido en muestras antiguas y sólo establecido en poblaciones modernas y a partir de marcadores en el genoma nuclear (de Grijter et al., 2005), analizar la posibilidad de generar árboles filogenéticos entre diferentes infrapoblaciones de estos parásitos, que como hemos visto muestran una interesante tendencia coevolutiva con las poblaciones humanas a las que afectan.

9.4.1. Selección del genoma objetivo del análisis

En el contexto de los estudios de DNA antiguo, hay dos fuentes principales: el DNA organelar y el nuclear. El genoma nuclear haploide de los helmintos no excede los 200 Mbp y su contenido de G+C varía de 43 a 47 %, un rango similar al presente en otros invertebrados y mamíferos. Sin embargo, la cantidad total de DNA presente en estos organismos puede variar considerablemente, dependiendo del grado de poliploidismo. La medida del genoma de los helmintos parásitos es mucho mayor que la de sus parientes de vida libre, lo cual puede estar relacionado con los complejos cambios morfológicos y bioquímicos que ocurren durante sus ciclos de desarrollo. En algunos nemátodos, la disminución de cromatina da como resultado diferentes contenidos de DNA entre los linajes de la línea germinal y las células somáticas. En *Ascaris suum*, aproximadamente un cuarto del total de DNA nuclear es eliminado por este complejo mecanismo de reorganización programada del DNA. Como el DNA de otros eucariontes, el DNA de los helmintos es altamente repetitivo, con un rango del 14 al 50%.

Los nematodos tienden a ser muy conservadores en su morfología, pero las técnicas moleculares han demostrado que muchas presuntas especies únicas en realidad corresponden a conjuntos especies crípticas (Murphy et al., 1996). Las regiones de los genes ribosomales (rDNA), en el genoma nuclear, conocidas como ITS (Internal Transcribed Spacer), particularmente ITS-1 y ITS-2, son los marcadores más usados para discriminar entre especies de nemátodos (Blouin, 2002). Secuencias ITS han sido

muy usados debido a que estas regiones están entre los loci más variables y porque hace tiempo existen partidores universales disponibles que funcionan con la mayoría de los nematodos. Una atención relativamente escasa se ha prestado al DNA mitocondrial como una fuente de marcadores especie-específicos, incluso considerando que este genoma evoluciona muy rápido en los nematodos (Denver et al., 2003; Blouin et al., 1998). La variación en las secuencias de mtDNA entre los individuos de la misma especie de nemátodos tiene una media sobre el 2% y *Ostertagia ostertagi* presenta la máxima diferencia observada alguna vez entre un par de individuos que pertenezcan claramente a la misma población fértil, llegando a un 6% (Blouin et al., 1998). Mientras que las diferencias en las secuencias mitocondriales entre dos especies relacionadas es típicamente del orden de un 10-20%. Los niveles de variación en las secuencias ITS observados entre individuos de la misma especie alcanzan típicamente el 1%, más o menos el mismo grado de variación que se observa entre ITS dentro de los individuos (Blouin, 2001). Las secuencias ITS, entonces, no son tan útiles como las secuencias mitocondriales para identificar, por ejemplo, potenciales especies crípticas entre un pequeño número de individuos (Blouin, 2001). Se aprecia a su vez que esta tendencia a una alta variabilidad en el genoma mitocondrial de los nematodos puede permitir la generación de buenos marcadores para generar árboles filogenéticos y filogeografías a escalas relativamente cortas de tiempo.

Las mitocondrias son organelos que se encuentran en el citoplasma de las células y su número varía dependiendo de la función de la célula. En las células del hígado de los mamíferos, por ejemplo, se pueden encontrar alrededor de 1.000 a 1.500 mitocondrias. Las mitocondrias cargan con su propio material genético, organizado de forma circular (por lo que a veces es conocido como “genoma circular”) y la composición de éste, tanto en términos estructurales como de longitud, pueden diferir radicalmente entre diferentes linajes de organismos. La mayoría de los metazoos, con excepción de algunos cnidarios, poseen genomas mitocondriales circulares compactos que varían en longitud de entre 14 a 19 mil pares de bases. Las mitocondrias humanas presentan un genoma de alrededor de 16.569 pares de bases de longitud (Pakendorf y Stoneking, 2005). Entre los helmintos,

en particular dentro de los nematodos, se dan casos de genomas mitocondriales tan pequeños como el que presenta *Cooperia oncophora* de tan sólo 13.626 nucleótidos de longitud, e incluso menores.

El genoma mitocondrial de los metazoos contiene usualmente 12 a 13 genes que codifican subunidades proteínicas de las enzimas involucradas en la fosforilación oxidativa, 22 genes de RNA de transferencia y los RNAs ribosomales largo y corto (L-rRNA y S-rRNA). Estas características generales se mantienen en los helmintos, si bien la disposición dentro del genoma de estas unidades varía notablemente entre las diversas especies. En adición a estos genes, existe una región no codificante conocida como *D-loop*, región control o región rica en AT, la cual se sabe que regula la iniciación y control de la replicación y transcripción en vertebrados e invertebrados (Hu et al., 2002). En las mitocondrias humanas, la región control tiene un tamaño de alrededor de 1.100 pb. En el caso de los helmintos, la reducción del genoma mitocondrial se expresa fundamentalmente en un reducido tamaño de esta región.

Son conocidas las características del genoma mitocondrial que lo hacen un blanco ideal para los estudios de coevolución y filogenia, y para estudios evolutivos en general. Además de la alta tasa de variabilidad que ya mencionamos, estas características incluyen su alto número de copias por célula (lo que hace más probable su detección en una muestra única), la herencia materna (que posibilita trazar la genealogía de un linaje en el tiempo por la línea materna, descartando el efecto confuso de la herencia biparental), la aceptación mayormente generalizada de que es un genoma no recombinante (como sí lo es el DNA nuclear, lo que dificulta remontarse a través de él en la historia de los linajes), y de que si esto ocurre es sólo en casos excepcionales (Wiuf, 2001). Es particularmente importante para nuestro estudio, su alta tasa mutacional general respecto a la que presenta el genoma nuclear. Ésta es varios ordenes de magnitud superior a la de los genes nucleares, estimándose para el ser humano que las sustituciones por sitio por año en todo el genoma mitocondrial alcanzan una tasa de $1,7 \times 10^{-8}$ y en las dos zonas hipervariables de la región control estas tasas serían aun mayores (Pakendorf y

Stoneking, 2005). El cambio en las secuencias mitocondriales ocurriría unas 10 veces más rápido que las tasas más altas demostradas para el DNA nuclear, lo que probablemente refleja altas tasas de mutación (Maynard Smith, 2004). De este modo, las altas tasas de sustitución hacen al DNA mitocondrial muy valioso en el estudio de relaciones entre linajes con divergencia reciente. Por estas razones, los genes mitocondriales son considerados apropiados para investigar la genética de las poblaciones de nemátodos y sobre todo para la diferenciación de especies hermanas (Blouin, 2002).

La existencia de una gran molécula heredable en la línea materna que no recombina provee varios tipos de información única. El primero concierne a la posibilidad de establecer una estructuración geográfica de los linajes. De esta manera, sabemos que la variabilidad que encontremos dentro de una secuencia con este modo de transmisión a través de las generaciones está exclusiva o casi exclusivamente determinada en función del tiempo transcurrido, o más bien por el número de generaciones a través de las cuales dicha molécula se ha replicado. Por otro lado, el *DNAmt* puede ayudar a determinar el tamaño de una población en el pasado, al permitir teóricamente deducir la antigüedad del ancestro común único de un linaje (en el caso de los seres humanos, situado entre hace 10.000 y 20.000 generaciones). El número efectivo de hembras dentro de nuestra especie no pudo caer nunca bajo los 5.000 – 10.000 individuos (Maynard Smith, 2004).

Ahora bien, un criterio ineludible a la hora elegir el genoma mitocondrial (un criterio que, desde luego, tuvo un peso decisivo en la selección de las uncinarias como objeto de estudio) es que para las dos especies seleccionadas éste genoma se encuentra completamente secuenciado y está disponible en las bases de datos, por lo que desde ahí ya es posible escoger cualquier región de él que nos resulte informativa. La producción de las secuencias completas de los genomas mitocondriales de estas especies fue el resultado de una aproximación mediada por el uso de PCR, cuyos reportes se encuentran en Hu et al. (2002 y 2003). Respecto al DNA nuclear de estos organismos, hasta la fecha

sólo existen secuencias parciales. Pero quizá lo más importante para nosotros sea, en tanto dirigiremos nuestras observaciones hacia el DNA antiguo proveniente de restos biológicos únicos, el elevado número de copias que presenta el material genético mitocondrial.

En los casos particulares de *Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*, sus genomas mitocondriales son particularmente de pequeño tamaño, con 13.604 pb en el caso de *N. americanus* y 13.721 pb en el caso de *A. duodenale*, contándose entre los más cortos descritos para metazoos. Ambos genomas circulares son más pequeños que el de todos los otros nematodos reportados hasta el momento (Hu et al., 2002). El pequeño tamaño del genoma mitocondrial de ambas especies se relaciona principalmente con la reducida longitud de la región rica en AT (268 pb en *A. duodenale* y 173 pb en *N. americanus*, comparados con los 466 pb de *C. elegans* o los 886 pb de *A. suum*). Ambos genomas presentan genes que codifican para 12 proteínas, dos RNA ribosomales y 22 RNA de transferencia. La composición nucleotídica de ambos genomas los señala como muy ricos en A+T y pobres en G+C. La estructura (el orden) de los genes dentro del genoma circular es la misma en ambas especies, así como también es compartida mayormente por *C. elegans* (excepto por la presencia de una pequeña región no codificante entre los genes *nad3* y *nad5*) y otros nemátodos secuenciados presentes en las bases de datos, como *A. suum* y *C. ocohora*, mas no con todos. Por ejemplo, difiere sustancialmente con la estructura que presenta el genoma mitocondrial de *O. volvulus* y *T. spiralis*, entre otros nemátodos. Las diferencias en la organización del genoma en los pocos miembros del phylum Nematoda de los que se tiene secuencias completas disponibles contrasta con lo similar que resulta la organización del genoma entre un amplio rango de clases de vertebrados, lo que se puede relacionar con la relativamente rápida tasa de “reorganización” de los genes mitocondriales en los nematodos. Los especímenes de *Necator americanus* cuyos genomas mitocondriales fueron secuenciados provienen de China (Zhejiang) y de Togo. El genoma mitocondrial de *Ancylostoma duodenale* fue secuenciado a partir de un espécimen de China (Hu et al., 2002 y 2003).

9.4.2. Criterios de selección de las secuencias blanco

Una vez determinados los parásitos y el genoma sobre el cual ejecutaremos nuestra aproximación, procederemos a establecer las regiones para las que propondremos la elaboración de partidores. Esto lo haremos basándonos en los siguientes criterios:

- 1) Marcadores mitocondriales que permitan determinar la presencia de un amplio rango de helmintos en una muestra dada. ¿Hasta qué punto se parecen todos estos organismos a nivel de genoma mitocondrial?
- 2) Marcadores mitocondriales que permita detectar en muestras antiguas la infección provocada por *hookworm*. Hasta ahora, ésta ha sido demostrada sólo a través del análisis microscópico de huevos, metodología cuyas limitaciones ya hemos discutido previamente. También se han desarrollado, sobre muestras modernas, marcadores en el DNA nuclear de estos parásitos para su detección mediante PCR, pero la aplicación de éstos resultaría probablemente ineficiente en muestras antiguas y degradadas.
- 3) Marcadores mitocondriales que posibiliten el diagnóstico diferencial entre *A. duodenale* y *N. americanus*. Detrás de este objetivo se asume que estas especies hermanas, a pesar de cohabitar los mismos nichos ecológicos, las mismas regiones, parasitar a las mismas poblaciones y con frecuencia a los mismos individuos, permanecen en aislamiento reproductivo, presentando diferencias importantes en su DNA producto de una larga historia divergente. Por otra parte, es sobre la posibilidad de diferenciar entre estas dos especies y poder centrar el estudio en uno sólo de estos genomas mitocondriales que se establece la principal hipótesis de trabajo de este estudio, a saber, que con las técnicas actualmente disponibles ya es posible trazar árboles o redes filogenéticas y filogeográficas de un parásito humano metazoo.

En la búsqueda de secuencias que maximicen la observación de similitudes entre dos o más especies (que incrementen las diferencias en función del tiempo de manera que aumenten la resolución del análisis en escalas pequeñas y en linajes cercanos), la sección de DNA mitocondrial que se ha empleado con mayor frecuencia es la región hipervariable del genoma mitocondrial, también conocida como *D-Loop* o región rica en AT, debido a que, en tanto se trata de una porción de DNA no codificante, se espera que su evolución en el tiempo esté principalmente dictada por mutaciones neutrales a un ritmo relativamente (estadísticamente) estable, que posibilite a la larga la construcción de relojes moleculares y filogenias más precisas. No obstante, se puede señalar que la elección de un marcador no neutral no presenta consecuencias en la mayoría de los estudios microevolutivos (Avice, 2004), aunque en la determinación de estructuras poblacionales y flujos génicos el empleo de marcadores bajo intensa selección puede provocar errores de interpretación cuando se asume su neutralidad.

Siendo la variación diferencial en las tasas de evolución lo que permite la elección de los marcadores apropiados para preguntas filogenéticas particulares (Avice, 2004), cuando el objetivo es analizar la variabilidad entre organismos con una buena definición, la búsqueda de una zona de alta variabilidad en el genoma mitocondrial de un organismo comúnmente comienza (y termina) en la región rica en AT. Sin embargo, en el caso de las uncinarias, esta región es extremadamente corta, alcanzando los escasos 173 pb en el genoma mitocondrial de *N. americanus*, y 268 en *A. duodenale*, estando entre las longitudes más estrechas para esta sección descritas en cualquier nemátodo. Secuencias tan cortas constituyen un problema debido a que reducen la posibilidad de hallar buenos partidores en ellas y resultan ser poco específicas. Por otro lado, dentro de un genoma tan rico en AT, esta sección se observa como extremadamente pobre en G+C, haciendo muy difícil, sino imposible, generar partidores a partir de su constitución nucleotídica.

Dada las características de los genomas mitocondriales de las uncinarias, se debió proceder a un análisis de éstos buscando las zonas de mayor y menor variabilidad. Gran parte de la información necesaria al respecto ya estaba disponible en la primera descripción de los genomas mitocondriales de estas especies (Hu et al., 2002). Adicionalmente se utilizó el programa ClustalW para hacer los alineamientos de secuencias y el programa MEGA para analizar dichos alineamientos. Se determinaron las zonas de mayor y menor variabilidad entre las dos especies de uncinarias, y se determinaron las zonas de mayor variabilidad intraespecie dentro de la única especie que hasta la fecha cuenta con dos secuencias completas disponibles, *N. americanus*. Se compararon estas secuencias con otras especies de nematodos que estaban secuenciados; se eliminaron finalmente las especies demasiado disímiles, basándonos en las relaciones filéticas previamente establecidas y sobre todo en su organización genómica. Finalmente las especies que compartían organización con las uncinarias fueron alineadas y comparados sus genomas para determinar las zonas más y menos variables entre todas las variedades disponibles. También se alinearon los genomas mitocondriales de las uncinarias con el del ser humano, para comprobar que su divergencia en las zonas seleccionadas fuera significativa, evitando de este modo que, a la larga, homologías no detectadas produzcan errores de interpretación a la hora de aplicar los PCR.

De esta manera, las zonas seleccionadas como marcadores útiles según los criterios ya descritos fueron:

- 1) Subunidad RNA ribosomal larga (L-rRNA o *rrnL*): el gen que codifica al RNA ribosomal 16S corresponde a una estructura del genoma mitocondrial muy conservada, como todos los genes que codifican para RNAs estructurales, especialmente de forma intraespecífica. Mediante su análisis se espera desarrollar marcadores de uso general para apuntar a los genomas mitocondriales de un grupo taxonómico extenso, eg. nemátodos.

En principio, se determinó realizar el análisis de dos marcadores en los genomas de las uncinarias basándonos en los resultados obtenidos por Hu et al. (2002), buscando las secuencias que presentaran mayores tendencias a la conservación. Éstas fueron, por una parte los “clusters” de genes de RNAs de transferencia (tRNA) Ile, Arg, Gln y Phe, entre los genes *nad2* y *cob*, por un lado, y Cys, Met, Asp y Gly, entre los genes *cox1* y *cox2* (ver Hu et al., 2002) que presentaban la tendencia a agruparse juntos tanto en *N. americanus* y *A. duodenale* como en *C. elegans*; dicha agrupación permitiría tomar una secuencia de mayor tamaño que estas pequeñas unidades por separado, las que tienen la característica buscada de ser muy poco variables; por otro lado, el análisis se dirigió a la secuencia de RNA ribosomal larga, que muestra una tendencia siempre conservadora en los genomas mitocondriales.

Para ambos casos se alinearon los nemátodos cuyas secuencias mitocondriales completas se encontraran disponibles. Éstos fueron los siguientes (entre paréntesis figuran sus números de referencia en *Genbank*):

- *N. americanus* Togo (AJ556134)
- *N. americanus* China (AJ417719)
- *A. duodenale* (NC_003415)
- *C. elegans* (NC_001328)
- *Ascaris suum* (NC_001327)
- *Heterorhabditis bacteriophora* (NC_008534)
- *Strongyloides stercoralis* (NC_005143)
- *Cooperia oncophora* (NC_004806)
- *Onchocerca volvulus* (NC_001861)
- *Brugia malayi* (NC_004298)
- *Anisakis simplex* (NC_007934)

Fueron descartados del análisis otros genomas mitocondriales completos de nemátodos disponibles por presentar organizaciones y tamaños que diferían demasiado con los observados en las uncinarias y estar clasificados taxonómicamente en grupos muy distantes. Por ejemplo, se sacó del análisis a *Thaumamermis cosgrovei* (NC_008046) y *Xiphinema americanum* (NC_005928), por presentar genomas mitocondriales con tamaños demasiado dispares a los otros miembros del grupo (20.013 y 12.626 pb, respectivamente) y a *Trichinella spiralis* (NC_002681) y *Strelkovimermis spiculatus* (NC_008047) por ostentar estructuras genéticas demasiado diferentes a las de las uncinarias (13 genes en lugar de 12, en el caso de *T. spiralis*, y 16 genes y 29 RNAs estructurales, en lugar de 24, en el caso de *S. spiculatus*), entre otros nemátodos descartados.

Entre los nemátodos seleccionados, en el caso del análisis de las secuencias de los RNAt, se buscó aquellos organismos que compartieran la organización del genoma que presentan *A. duodenale* y *N. americanus*, particularmente la característica descrita de dos bloques o “clusters” de 4 *tRNAs* juntos. Los helmintos que presentaron esta organización fueron:

- *N. americanus* Togo
- *N. americanus* China
- *A. duodenale*
- *C. oncophora*
- *C. elegans*
- *A. suum*

Se alinearon las secuencias de los tRNA (Ile, Arg, Gln y Phe, por un lado, y Cys, Met, Asp y Gly, por otro), de estos organismos.

Por otra parte, se alinearon todas las secuencias del RNA ribosomal largo, disponibles entre los nemátodos, y se analizó el alineamiento hasta descartar a los helmintos que fueran excesivamente diferentes, en términos de longitud del genoma y de excesiva producción de gaps en el alineamiento, hasta finalmente quedar con los siguientes nemátodos para el análisis:

- *N. americanus* Togo
- *N. americanus* China
- *A. duodenale*
- *C. elegans*
- *A. suum*
- *H. bacteriophora*
- *S. stercoralis*

Finalmente se decidió acotar el análisis dirigido a la generación de partidores a la secuencia de la subunidad RNA ribosomal larga debido a que (a) se observaba como más conservada en todos los nemátodos analizados, (b) tomar las secuencias de cuatro tRNA que presentan cierta tendencia a permanecer juntos dentro de determinados linajes como si se tratara de un solo gen es una decisión un poco arbitraria y arriesgada, y (c) los linajes de helmintos que compartían dicha tendencia y cuyas secuencias se encuentran disponibles son pocos, por lo que para los objetivos planteados en este punto del estudio, a saber, generar uno o varios marcadores que permitan detectar el mayor número de nemátodos en una muestra, resultan insuficientes.

- 2) Gen *cox1*: el gen que codifica a la proteína citocromo oxidasa 1 es analizado debido a que se trata del gen más conservado en el genoma mitocondrial de *N. americanus* (Hu et al., 2003). Se espera que sea suficientemente conservado, al

menos en algunas zonas, también para *A. duodenale*, de manera que permita generar un marcador mitocondrial para identificar a uncinarias en general.

Así, en segundo término, el objetivo establecido fue la producción de marcadores que permitieran la detección de ambas especies de *hookworm* (indiferenciadamente) dentro de una muestra. Para esto, siguiendo los resultados de Hu et al. (2002) se optó por tomar el gen que en términos proteínicos presentaba la mayor tasa de conservación dentro de la comparación entre *N. americanus*, *A. duodenale* y otros 3 nemátodos comparados (*C. elegans*, *A. suum* y *O. volvulus*), y que fuera suficientemente extenso para permitir su análisis y la generación de partidores dentro de él. Se optó por el gen *cox1* (gen que codifica la proteína citocromo oxidasa 1), cuyo largo es de 1.575 pb, asumiendo dos cosas: (a) que la conservación en términos aminoacídicos reflejaba la conservación en términos nucleotídicos, y (b) que la conservación de este gen dentro de las especies analizadas reflejaba una tendencia a permanecer relativamente conservado intraespecíficamente.

La comparación intraespecífica de *N. americanus* desarrollada por Hu et al. (2003) señala que la diferencia nucleotídica presente dentro de dicha especie en lo que respecta a este gen es bastante acusada, comparado con otros genes, con un 5.1%. Sin embargo, en pos de establecer un equilibrio y considerando los datos disponibles, los dos genes que presentaban las más bajas tasas de variabilidad intraespecífica, *nad4L* y *cox3* (con un 3,4% y un 3,5%, respectivamente) y también altas tasas de conservación aminoacídica con respecto a *A. duodenale* (93,5% y 96,1%, respectivamente, contra un 96,6% de *cox1*), representan secuencias demasiado cortas para que su variación resulte significativa o confiable dentro del análisis (*nad4L* mide sólo 234 pb y *cox3* ronda la mitad de la longitud de *cox1*). *Nad4* y *nad5* también parecían buenas alternativas en términos de su variabilidad intraespecie y su longitud, pero su variabilidad interespecie comparada con *A. duodenale* resultó ser más de un 10% mayor que la que presenta *cox1* (Hu et al. 2002 a y 2003), que al mantener una identidad de 96,6% en términos

proteínicos aparece como muy conservado dentro del linaje. De esta manera, la selección del gen parece la adecuada.

El alineamiento sobre el que se analizó este gen incluyó a los siguientes nemátodos (Figura 3):

- *N. americanus* Togo
- *N. americanus* China
- *A. duodenale*
- *C. elegans*
- *A. suum*
- *A. simplex*
- *S. stercoralis*

- 3) Gen *nad2*: se trata del segundo gen más variable dentro de *Necator americanus*. A partir de él se espera desarrollar marcadores para diferenciar a *N. americanus* de *A. duodenale* a nivel molecular.

Finalmente, se espera determinar regiones dentro de los genomas mitocondriales que nos permitieran (a) indentificar específicamente a *N. americanus* y *A. duodenale*, y (b) que aun siendo específicas para una sola de estas especies de helmintos, su variación intraespecífica nos permitiera sugerir la posibilidad de análisis poblacionales y la producción de genealogías específicas. Este objetivo implica encontrar buenos partidores. muy conservados para los dos genomas de *N. americanus* disponibles y muy variables con respecto al genoma mitocondrial de *A. duodenale* (necesariamente el análisis debe enfocarse en el parásito para el cual contamos con información sobre su variación intraespecífica, *N. americanus*, por escasa que ésta sea hasta el momento) y que abarquen una región de alta variabilidad intraespecífica. Objetivo por lo demás paradójico y ambicioso.

Se optó por enfocar el análisis en el gen *nad2* por las siguientes razones:

- a) La variabilidad que muestra entre *N. americanus* y *A. duodenale*, que en términos aminoacídicos, según Hu et al. (2002) es alta, presentando sólo un 76.2% de conservación, siendo el gen más variable después de *nad6*. En nuestro análisis, el *índice de disparidad* que se observa en la secuencias de nucleótidos alcanza el 0,31 entre *N. americanus* (Togo) y *A. duodenale* (China) y el 0,37 entre éste último y *N. americanus* (China), mientras que para el gen *cox1* el *índice de disparidad* entre estas especies está entre 0 y 0.08.
- b) La longitud del gen, ya que si bien *nad6* aparecía como ligeramente más variable con respecto a *A. duodenale*, dicho gen sólo presenta 435 pb de largo, casi la mitad que *nad2* (845 pb).

9.4.3. Desarrollo de los partidores

Luego de analizar los genomas con los que trabajaremos, se diseñó un pequeño protocolo, basado en las líneas generales para la definición de partidores, pero adaptado a las características particulares de las secuencias mitocondriales de las uncinarias:

1. Cada partidor debe medir entre 18 y 25 pb.
2. La secuencia que los partidores flanquearán deberá comprender idealmente un espacio del genoma de unas 130 pb, dado el pequeño tamaño de los genes y la degradación esperable en el DNA antiguo.
3. Poseer un porcentaje de G+C en torno al 40%. Idealmente se espera encontrar partidores con sobre un 50% de G+C, sin embargo tratándose de genomas tan

ricos en A+T consideramos que partidores con un 40% de G+C aun son útiles dentro del contexto, aunque ello implique variaciones importantes en los protocolos del PCR.

4. Idealmente los partidores deberían presentar G o C en los extremos, pero atendiendo a la norma de no producir secuencias demasiado “pegajosas”, especialmente en el extremo 3’.
5. Se debe procurar que exista una identidad completa entre la región del extremo 3’ del partidor con su cadena complementaria en la secuencia blanco. Será permisible que haya sólo uno o hasta dos cambios en el partidor respecto al molde, pero no pueden haber sustituciones en la región 3’ (que definiremos como los 8 primeros nucleótidos de ese extremo, considerando un partidor promedio de 20 pb).

Sobre esta guía, desarrollamos la búsqueda de partidores apropiados en las secuencias alineadas.

I) Subunidad RNA ribosomal larga

Una vez enfocado el análisis sobre esta secuencia, se procedió a buscar dentro del alineamiento (Figura 3) las regiones que aparecieran más conservadas entre los 7 genomas contemplados, buscando la generación de partidores útiles.

#N. americanus Togo	TAAATGATTT	TTTAATAAAT	TTTGGTATTG	CATATCATT	AAGTAAAATT	TTAT--TTTT	ATAAAATATA	AAATTAGAAA
#N. americanus China
#A. duodenale	..TT.G.	..GTT..TT.AG.....	G.....A.G
#C. elegans	..TT.AC	..GTT..A.CT..A	C.A.....	..C..G.A	G..AC.A.GG
#A. suum	..GTATT..	..TTC.TT.	TG..CT..A	..G.G.....	..AC..TTG.	G..AG.A..G
#H. bacteriophora	..TG..G	..G.TT..T.	G.A.....	..CT..A	..G.G.....	..C.A-G.A	G..A.A..G
#S. stercoralis	..TT.TT.A	..AT..T.	A.A.....	..CT..G	T..G.T.T.	..C.AA-GA.	T.G.T.A.	G..AC.A.GT
#N. americanus Togo	GTA-GAATTT	TTTCATTTTT	TATTGTTTCA	TAATAAAAA	TAGAAAATTT	AGGGTTGAAA	AGTCGATTC	TAAGATATTT
#N. americanus China
#A. duodenaleTT.A.
#C. elegansG.AA	A.AT.AG.
#A. suumGA.	AATAAG.	AT.....
#H. bacteriophoraAAT.AG.
#S. stercoralis	..TTA.GG.G	..AGT..T.
#N. americanus Togo	GTGTTATTTT	TTT-TATTAG	AAATTTATAT	TATAATATTT	TATTTTATA	AATAGTAAAA	GTAAAGTAT	TGTTTTTTAT
#N. americanus China
#A. duodenale	..T.AT.	C.....	GG.TT.T.A	GT.A..G.
#C. elegans	..T.-T.A.	AT..TATAA.	-A.....GG	..ATT.
#A. suum	..T.AT.	GG.-T.G.	GTA.G..GG	..GTTA.G.T	..GT..G.
#H. bacteriophora	..A.AT.A.	ATA..TG.	..TA..AG	GTA.TA.GG	..GT..G.
#S. stercoralis	..T.TAA.	AT.GT.T.	GT.TA.TC
#N. americanus Togo	A-GTTTTATA	ACTGTTTATT	GTGTTTATTA	GTTTTATAGT	TTTAA-TA-T	TTATCTATAT	TGGGTTAAAT	AAATATCTTT
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum	GT.....	..GT..G.	T.T.....	A.GG.G.	..G-T.
#H. bacteriophora	..A.G.C.	..T.ACC.	..T.A.T.	..A.TTA	..AT.T.G	..C.ATA.G.C	..ATA.G.
#S. stercoralisT.ACTAC	T.T..T.T
#N. americanus Togo	AAAATTAGTA	AATAAGTT-A	AATTTTGTTT	TG-AGTTTTA	TTATAAATTT	AAGAAATAG	AAATTAATCA	AATGTTTTTT
#N. americanus China
#A. duodenaleTT.AA.G.A..G	A.T..AA
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis
#N. americanus Togo	AAAGACTTAG	ACTTTTAAAT	AAAGTTTGGT	TCTGCCCAAT	GATTATTATT	AAATGGCAGT	CCTTCCGTG	GGACATTAAG
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis
#N. americanus Togo	GTAG-CAAAA	TAAATTTGCG	TTTTATT--	----GAGTT	CC--AGTAT	GAATGAAGTT	ATTGGTTAAT	TATATTTTTT
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis	..A.TT.GCGG	CCGCC..CAG	G.CG.CCATA	TGGGA..C.	..CCG.....
#N. americanus Togo	TTTTTAAAT	GAAGTTTGT	-TAGTATAAA	AAAGTATTAT	TATAATTA	CAAAGATAAG	TCTTCGGAAA	TTCTTTTATG
#N. americanus China
#A. duodenale	A.....
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis
#N. americanus Togo	TATA--ATTA	GTGTTTATG	A--TATATAA	ATTTTCTAGG	GTAGAAAATT	TTATAATATA	GTT----TA	TCATTAATA
#N. americanus China
#A. duodenale	A..TTT.A.	..TA..A.A	AG.T.T.
#C. elegans	ACACAAT.A	A.AA.GTG.
#A. suum	A.ATATT.T	T.AA..TT.
#H. bacteriophora	A..TATTC.T	T.AA.G
#S. stercoralis	..TAA.AAT	T.T..TT.
#N. americanus Togo	AATTTATGAA	TTACTCCGGA	GTTAACAGAA	AATCATATCT	AATCTAGTTC	TTATAGTAG-	GATAAGTTTT	ACATCGATGT
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis
#N. americanus Togo	TGTATTTAAG	TTTTTAAAGA	GAGGAGAATA	CTTAAATTTT	GAGACTGTTC	TTCTTTTAAAT	TAATTTA3CG	TGRTATTAGT
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis
#N. americanus Togo	TTAATTCATT	GTGAGATAGA	ATTGTTTATC	TTGTTAATTA	TTTATTGTA	ATT-TTAATA	GTACGAAAGG	AAAATTAATA
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis
#N. americanus Togo	AAAGTTTTAA	ACTTT--AT	AAAGTTAATC	TTTT--
#N. americanus China
#A. duodenale
#C. elegans
#A. suum
#H. bacteriophora
#S. stercoralis

Figura 3. Alineamiento del gen L-rRNA de nemátodos. Los rectángulos celestes encierran los partidores *forward* y los rosados los partidores *reverse*.

Finalmente, los partidores hallados fueron los siguientes:

- a) Forward: 5' – TGGCAGTCTTAGCGTGAGGACA – 3'
Reverse: 5' – GAATTTCCGAAGACTTATCTTTGT – 3'

Esta pareja de partidores abarca una secuencia molde de 167 pb, lo que resulta un poco excesivo tratándose de DNA degradado. Sin embargo, es una pareja interesante de partidores ya que flanquean dos zonas que son altamente variables en todos los nematodos alineados. El partidior *forward* presenta el problema de que en su región 3' es muy diferente a *S. stercoralis* (tiene 3 variaciones, pero dos nucleótidos detrás del extremo). El partidior *reverse* presenta 1 variación respecto a *A. suum*, *H. bacteriophora* y *S. stercoralis*, pero ocurren hacia la región 5' (en los dos últimos casos la variación es en el mismo extremo). En este caso el partidior *forward* presenta más de un 50% de C+G, sin embargo el *reverse* presenta sólo un 33%, sin posibilidades de incrementar su relación de nucleótidos desplazándolo, lo que ocasiona que sus respectivas T_m difieran en más de 6° C, según el programa amplifX. Al ser analizados mediante la aplicación Netprimer, ambos obtienen buenos puntajes (*forward*: 92, y *reverse*: 86).

- b) Forward: 5' – CTCCGGAGTTAACAGAAAATC – 3'
Reverse: 5' – GAATTAACTAATATCACGT – 3'

Esta pareja de partidores comprenden una región molde de 154 nt. El partidior *forward* presenta más de un 40% de C+G, pero el partidior *reverse* tiene menos de un 30% de C+G. El partidior *forward* presenta, además, una variación respecto a *A. duodenale*, en la región 5', 2 variaciones respecto a *A. suum*, una en la región 5' y otra en la región 3', una diferencia en la región 5' respecto a *H. bacteriophora*, y una diferencia en la región 3' con *S. stercoralis*.

- c) Forward: 5' – AGTTTTACATCGATGTTG – 3'

Reverse: 5' – GAATTAAACTAATATCACG – 3'

Los que abarcan una región molde de 104 pares de bases, con dos extremos muy conservados (ambos partidores presentan una identidad total en todas las especies alineadas) y una zona central de alta variabilidad entre las diferentes especies, de manera que su secuenciamiento ulterior permitiría la diferenciación entre las especies.

Sin embargo, los porcentajes de G+C de ambos partidores son muy bajos, en torno al 30%. Ahora bien, considerando que todos estos helmintos poseen genomas mitocondriales muy ricos en AT es probable que esto no represente un problema inhabilitante para la realización del PCR. Por otro lado, al presentarse relaciones equivalente de G+C y A+T entre ambos partidores, resultan adecuados ya que su temperatura de fusión o *melting* sería similar.

La disparidad entre las parejas de partidores y el número de variaciones respecto al DNA diana de algunos de los helmintos alineados, nos llevan a proponer como el par de partidores más apropiados a éstos últimos (c), a pesar de su baja temperatura de hibridación, para una aproximación mediada por PCR en busca de identificar el mayor rango de helmintos en una muestra. Además su tamaño resulta más apropiado para trabajar con DNA degradado. Al ser analizados con el programa Netprimer, estos partidores obtienen puntajes dispares. Mientras el partidior *reverse* presenta un buen rating, de 90, el *forward* presenta un bajo puntaje, de sólo 62, relacionado con su probabilidad de establecer estructuras secundarias.

II) Secuencia del gen *cox1*

El alineamiento arrojó un aspecto muy variable (Figura 4), sin embargo se observaron un par de zonas interesantes para la producción de partidores. Respecto a este marcador, lo importante era encontrar regiones en que las secuencias fueran muy conservadas para

A. duodenale y las dos cepas conocidas de *N. americanus*, y que difirieran de forma importante en el resto de los nematodos incluidos en el alineamiento. Los partidores seleccionados fueron descritos de la siguiente forma:

- a) Forward: 5' – ATTATTCGTTTGGAGTTGGC – 3'
Reverse: 5' – CATTCAATTACCAAAACCA – 3'

En el caso del partididor *forward*, establece una identidad completa con las secuencias moldes de *A. duodenale* y *N. americanus* (Togo y China) y múltiples diferencias dentro de los otros 4 genomas alineados; lo mismo ocurre con el partididor *reverse*, con una identidad completa con las uncinarias, aunque las variaciones respecto a las secuencias de los otros nematodos no son tan acusadas. El partididor *forward* presenta un 40% de C+G y el *reverse* aproximadamente lo mismo. La pareja de partidores flanquea una secuencia de 141 nt, la que incluye una zona con múltiples diferencias incluso dentro de los genomas de las uncinarias. Todos estos aspectos los indican como una buena pareja de partidores para identificar material genético de uncinarias humanas dentro de una muestra. La T_a sugerida por el software amplifX es de alrededor 50° C, con una diferencia en las T_m de ambos partidores inferior a 1° C.

- b) Forward: 5' – GGTTTATAACAGGTTATGTTTATG – 3'
Reverse: 5' – ACGAGGAAAACCATGTAAACCA – 3'

Esta pareja de partidores abarca una región blanco de 122 pares de bases. El partididor *forward* es idéntico al DNA molde de las uncinarias, excepto por una transición en la región central de la secuencia en *A. duodenale*. El partididor *reverse* presenta una identidad completa con su molde. El partididor *forward* presenta un muy bajo porcentaje de G+C (inferior al 30%); mientras que el partididor *reverse* presenta en cambio más de un 40% de G+C. La diferencia entre las T_m de ambos partidores sería de alrededor de 7° C.

La discrepancia entre las proporciones de G+C en la última pareja de partidores, lo que se traduciría en dificultades en la realización de un PCR exitoso, llevan a proponer a la primera pareja de partidores como la más apropiada. Al analizar dichos partidores con la aplicación Netprimer, que analiza la formación de estructuras secundarias y las interacciones entre ambas secuencias, estos partidores presentaron altos puntajes (100 para el partidador *forward* y 90 para el *reverse*).

#N. americanus Zhejiang	ATTAATT-TA	TATAAAAAAT	ATCAGGGGGG	TTTAGCTACT	TGGTTGGAGA	GTTCTAATCA	TAAGGATATT	GGTACTTTGT
#N. americanus Togo-TA..A..A
#A. duodenale ZhejiangA..TA..	..A..A..A	..G.....G.....
#C. elegansC..TA..A..	A..G..AGT	..A..A..A.....C	..A.....C..TC..T
#A. suumG..GG..TT..T..A..T..	G..GT..GTA..A..
#A. simplexG..AAAGTT..C.....GC..TT..GTCA.....C.....C..C..T
#S. stercoralisG..T..TT	GTT..TT..TA.....G..A..T
#N. americanus Zhejiang	ATTTTTTGGT	TGGTTTGTA	TCTGGTATGG	TAGGTACTAG	TTTGCITTA	ATTATTGTT	TGGAGTTGGC	TAAACCTGGT
#N. americanus TogoG.....
#A. duodenale ZhejiangA.....T.....G.....GA.....
#C. elegansA..T..AC..T..T.....A..T.....T..A.....A..A..A..A.....
#A. suumG.....T.....G.....GG..G.....G.....G.....
#A. simplexA.....T.....GCC..T.....C.....C..T.....G..G.....
#S. stercoralisAA..T..A..G.....A.....T.....GCC..T.....A..C..T.....A..C..T.....A..G.....
#N. americanus Zhejiang	TTGTTGTTGG	GAAATGGTCA	GTTGTATAAT	TCTGCCATTA	CGGGCATGC	TATTTGATG	ATCTTTTTTA	TGGTAATACC
#N. americanus TogoTT.....A.....A..A..T.....G.....
#A. duodenale ZhejiangA.....ATT.....T.....A.....T.....G.....
#C. elegansT..TC..TAG.....A..A..TT.....A..T.....A..A..G.....
#A. suumC..TC..T.....T..G.....A..C.....TT.....T.....A.....T.....A.....T.....A.....T.....
#A. simplexC..T..T.....T..G.....A.....C.....TT.....T.....A.....T.....A.....T.....T..G.....
#S. stercoralisA..A..TA..TG.....A.....ATTT..A..T.....A.....A.....T.....
#N. americanus Zhejiang	TAGTATAAT	GGTGGTTTTG	GTAATTGAAT	GTTACCITTA	ATGTTGGGGG	CCTCCGATAT	AAGTTTTCCT	CGTTTAAATA
#N. americanus Togo
#A. duodenale ZhejiangG..T.....T.....C..A.....G..A.....
#C. elegansA..A..A.....A
#A. suumC..T.....G.....
#A. simplexA.....T.....A.....
#S. stercoralisA.....T.....A.....
#N. americanus Zhejiang	ATTTAAGTTT	TTGGCTGTGA	CCTACTGCTA	TGTTTTAAT	TTTAGATTCT	TGTTTTGTG	ATATAGGTG	TGGAACTAGT
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis
#N. americanus Zhejiang	TGAAGCTGTTT	ATCCACCITTT	AAGTACGTTG	GGACATCCAG	GTAGAAGTGT	TGATTTGGCT	ATTTTTAGTT	TACATTGTCC
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis
#N. americanus Zhejiang	TGGTTTAAGT	TCTATTTTAG	GTTGGATTAA	TTTTATATGT	ACAACAAAAA	ATTTGGGTAG	TAGACTTATT	TCTTTAGAGC
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis
#N. americanus Zhejiang	ACATAAGTTT	ATTTGTGTGA	ACTGTTTTTG	TTACGGTTTT	TTTGTGGTG	TTATCTTTAC	CAGTTTTGGC	TGGAGCTATT
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis
#N. americanus Zhejiang	ACTATGTTGT	TAACGTATCG	TAATTTAAAT	ACTTCTTTTT	TTGATCCAAG	TACTGGTGTG	AATCCGTTGA	TTTTACTAGCA
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis
#N. americanus Zhejiang	TTTGTTTTGA	TTTTTTGGTC	ATCCTGAGGT	TTATATTTTA	ATTTTGCCAG	CATTTGGTAT	TATTAGGCAA	TCAACTTTAT
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis
#N. americanus Zhejiang	ATTTAACTGG	AAAAAAAGAA	GTGTTTGTTT	CTTTAGGTAT	AGTATATGCG	ATTCTAAGAA	TGGTTTAAAT	TGGTTGTGTA
#N. americanus Togo
#A. duodenale Zhejiang
#C. elegans
#A. suum
#A. simplex
#S. stercoralis

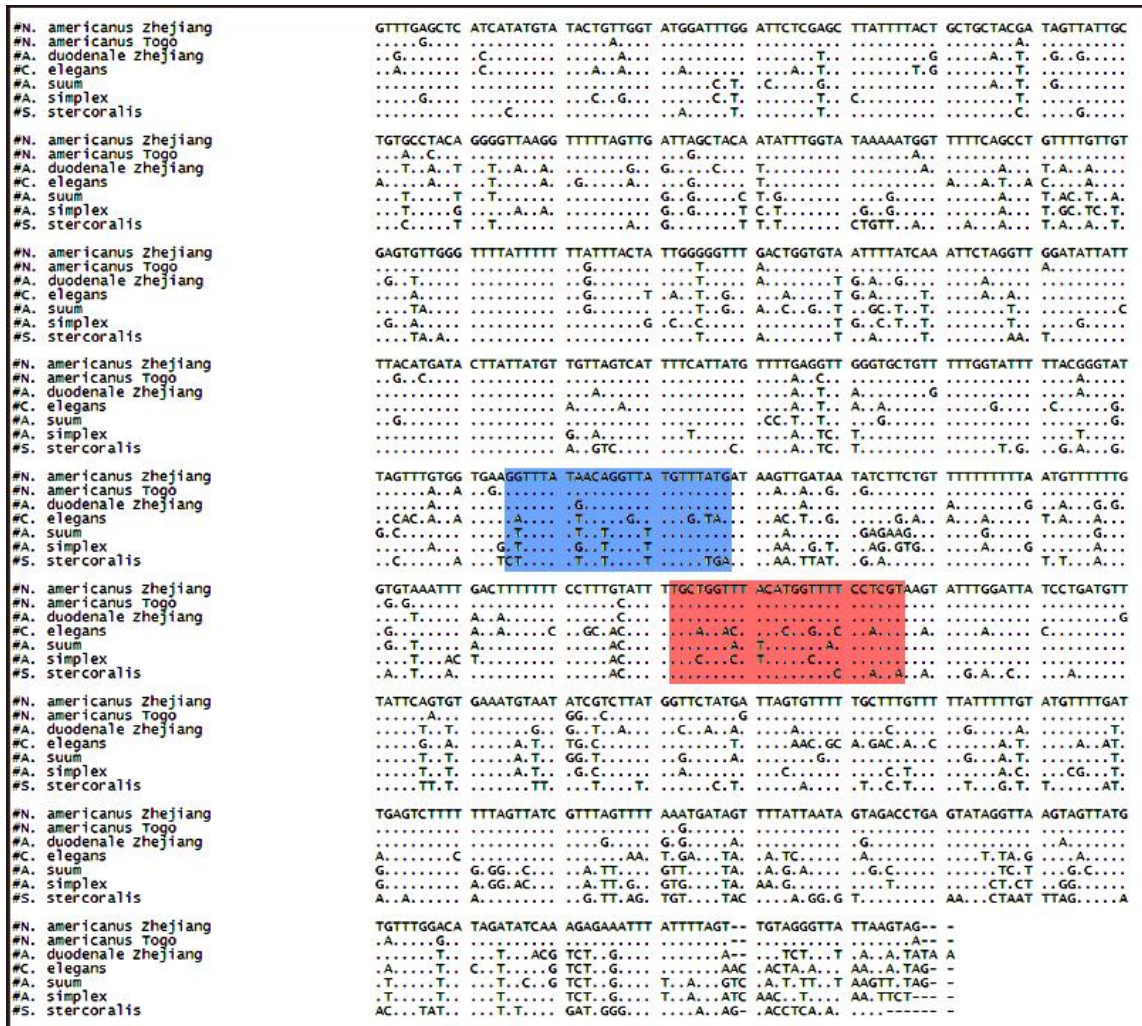


Figura 4. Alineamiento de secuencias del gen *cox1* de nemátodos. Los rectángulos celestes encierran los partidores *forward* y los rosados los partidores *reverse*.

III) Secuencia del gen *nad2*

Alineados *N. americanus* (China), *N. americanus* (Togo) y *A. duodenale* (Figura 5), se procedió al análisis de la secuencias con el objetivo de buscar zonas que permitieran la generación de buenos partidores. En este caso, el objetivo era encontrar dos secuencias de entre 18 y 25 bases que fueran idénticas en las secuencias de las dos cepas de *N. americanus* disponibles (asumiendo arriesgadamente que representan de algún modo, y en particular en este gen, que es uno de los más variables entre los descritos por Hu et

al., 2002 y 2003, la variabilidad intraespecífica que es posible encontrar en dicho helminto), pero que con respecto a la secuencia alineada de *A. duodenale* difirieran en el mayor número de sitios, en pos de generar un marcador que posibilite la identificación molecular precisa de *Necator americanus* y deje a *Ancylostoma* de lado.

#N. americanus Zhejiang	TTGTATTTGT TTTTAATAGT ATTTGTTTTG TTTTGGAGGT TATTAGGTTT GTTGGTTAAT AATGTTTTAG TTTGATGAAG
#N. americanus TogoTA.....A.....G.....A.....G.....AA.T.....A.....T.....G.....GA.....A.....A.....T.....G.....G.....
#A. duodenale ZhejiangTA.....A.....G.....A.....G.....AA.T.....A.....T.....G.....GA.....A.....A.....T.....G.....G.....
#N. americanus Zhejiang	TATTTTTTTA TTGATAACGT TAGTTTTTAT TAGTTAAAT AAGGTTTAA AAAGTTATTC AGGATTATT ATTTATTTTG
#N. americanus Togo	.G.....G.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#A. duodenale Zhejiang	AG.....G.....T.....G.....G.....G.....T.....G.....AAAGG.T.....T.....AG TACT.....A.....
#N. americanus Zhejiang	TTATTCAGGA AAGTTTGGGT TTATTATTTT TAATGTTTTT TTTGGGTTG TTCAGTTGT TGATTTTAAT GTTAAAGATT
#N. americanus Togo	.A.....A.....G.....A.....C.....G.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#A. duodenale Zhejiang	.A.....A.....G.....A.....C.....G.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#N. americanus Zhejiang	GGTATGGCAC CTTTTCATTT TTGGGTTTTT AGGGTTACTA ATAGTGTTTT TGGTTTTAAT TTAATATGAT TTTTAACGTT
#N. americanus TogoG.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....
#A. duodenale ZhejiangG.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....
#N. americanus Zhejiang	TCAAAAGTTG CCTTTTTTAT TAATTTTTT ACAGTTAATA TTTGGTAAGT TGGTGTTATT ATTATTTTTT GGTATTGTTT
#N. americanus TogoG.....A.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....
#A. duodenale ZhejiangG.....A.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....
#N. americanus Zhejiang	TTTGATGTT TCAAATGTTG TTAATAAAAA GTTATAAAAA TTTGTTGATT TTGCTTCTA CTGAGTCTT TAATTGAGTT
#N. americanus TogoT.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#A. duodenale ZhejiangT.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#N. americanus Zhejiang	ACTTTGGGAT TAGTTTTTTC TTTTITGAAT GTTTTTTTTT TGTTTTTATA TTAITTTGTT TTGATATTAT TGTTTATCC
#N. americanus TogoT.....TT.AA.G.....G.....A.....AA.....T.....T.....A.....A.....G.....TA.....TA.....
#A. duodenale ZhejiangT.....TT.AA.G.....G.....A.....AA.....T.....T.....A.....A.....G.....TA.....TA.....
#N. americanus Zhejiang	TAAGTTTGAG ATTTATAATT TTTTLAGATA TTTGGGTTGA GAAACAGTAT TGGTTTTTAT AAATTTACCC TTTAGAGTAA
#N. americanus Togo	.A.....A.....A.....G.....T.....G.....A.....A.....G.....A.....A.....G.....G.....T.....
#A. duodenale Zhejiang	.A.....A.....A.....G.....T.....G.....A.....A.....G.....A.....A.....G.....G.....T.....
#N. americanus Zhejiang	ATTTTTTTGT GAAGATTTTT TCCTTAAGTG AGATTTTTAA GGGTTATAGT TTTATTTTTT TGTATTATT ATTTATAATG
#N. americanus TogoC.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#A. duodenale ZhejiangC.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#N. americanus Zhejiang	TTTTTTTCAG TTTTATCITT AAGTTTTTGA ATGGTAAATT TAAGTACTAA GTTAAATGTT AATGTTAAGT ATAATAATTT
#N. americanus TogoG.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....
#A. duodenale ZhejiangG.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....G.....
#N. americanus Zhejiang	TATATTTTTA TTTTTTTTAC CATTAACTTT AATTATTTTA TTATAA
#N. americanus TogoG.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....
#A. duodenale ZhejiangG.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....

Figura 5. Alineamiento del gen *nad2* de *N. americanus* y *A. duodenale*. El rectángulo celeste encierra el partidor *forward* y el rosado el partidor *reverse*.

Se determinó que la mejor pareja de partidores dentro de *nad2* es:

Forward: 5' – TGGGTTGTTTCAGTTGTTG – 3'

Reverse: 5' – TACCAAATATTAACGTGTA – 3'

El par de partidores abarca una región de 164 pb y además de la extensión, que puede resultar aun un poco larga, presenta dos problemas determinantes. Por una parte, como todo el genoma mitocondrial de la especie, ostenta una preeminencia de A+T insalvable, con porcentajes de G+C bajos. El partidor *forward* tiene un contenido de G+C sobre el 40%; sin embargo el partidor *reverse* presenta menos de un 25% de G+C. Pero aun

subsannando ese hecho (es posible desplazar el partidior *forward* en su región para equiparar su porcentaje de G+C, manteniendo las otras características que lo hacen idóneo), sigue siendo una pareja de partidiores deficientes en tanto que la secuencia complementaria del partidior *reverse* muestra diferencias entre las dos secuencias conocidas de *nad2* en *N. americanus* (2 transiciones hacia la región 5'), adaptándose completamente sólo con la cepa china. Sin embargo, es probable que adaptando por un lado las proporciones de G+C del partidior *forward* para equiparlo a su pareja (desplazándolo un par de nucleótido, por ejemplo: 5' – TTGTTTCAGTTGTTGATT – 3', con lo que su relación G+C / A+T se vuelve muy similar a la del partidior *reverse*) y modificando el protocolo del PCR para ajustarse a temperaturas de hibridación más bajas, considerando la compisición alta en A y T, y pobre en G y C, que caracteriza a estos genomas, es posible que estos partidiores aun puedan ser usados. Una simulación de PCR realizada mediante el programa amplifX con esta pareja de partidiores (usando el *forward* modificado) sugiere una temperatura de apareamiento de 44,7° C y los partidiores, como era de esperar, sólo aparearon con el genoma de *N. americanus*. Se comprobó la formación de horquillas, dímeros, dímeros cruzados y la presencia de palíndromos en los partidiores mediante la aplicación en línea Netprimer (<http://www.premierbiosoft.com/netprimer/>) y los ratings de esta pareja de partidiores fueron de 91 (para el *forward*) y 85 (para el *reverse*). Un procedimiento de este tipo implicaría a su vez el cambio de todos los protocolos del PCR, incluido el tipo de polimerasa que se emplearía, ya que polimerasas de diferentes orígenes presentan diferentes temperaturas óptimas de actividad.

10. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES: HACIA UNA PALEOPARASITOLOGÍA GENÉTICA HUMANA

10.1. DISCUSIÓN: RETOS RELATIVOS A LAS HERRAMIENTAS DE ANÁLISIS MOLECULAR

10.1.1. Respecto a los partidores

Para producir partidores de mayor calidad es necesario hacer una indagación más extensa del genoma mitocondrial de estos helmintos. En el presente estudio, debido a que los objetivos eran menos ambiciosos en el aspecto bioinformático, se seleccionó algunas regiones por criterios ya detallados, dejando otras inexploradas y que bien podrían producir mejores marcadores. Pero más importante, especialmente para producir marcadores que permitan la identificación diferencial de las dos especies hermanas de uncinarias, es contar con un mayor número de secuencias completas de los genomas mitocondriales de *N. americanus* y *A. duodenale*, para tener antecedentes más confiables respecto a la variación que presentan intraespecíficamente y poder enfocar mejor la búsqueda de marcadores.

Por otra parte, el escaso conocimiento de la variabilidad intraespecífica en *N. americanus* arroja varios problemas de interpretación. En vista de que en algunas zonas del genoma las secuencias de *N. americanus* (Togo) presenta mayor similaridad con *A. duodenale* que con *N. americanus* (China), es decir, considerando que *A. duodenale* mantiene en algunos aspectos una mayor identidad con alguna de las dos cepas descritas, la única forma de conocer la verdadera utilidad de los partidores desarrollados aquí es contando con más datos, con más secuencias de diferentes individuos de estos parásitos,

para develar a ciencia cierta cuales son las regiones más “calientes” y las más “frías” intraespecíficamente dentro de estos genomas mitocondriales.

Pero consideramos que los partidores propuestos son los mejores de acuerdo a los datos con los que contamos y que ya permiten la realización de aproximaciones mediante PCR a diferentes niveles.

10.1.2. Respecto a las herramientas y técnicas biotecnológicas, en particular el PCR

Si bien disponemos de secuencias de *N. americanus* y *A. duodenale*, éstas siguen siendo escasas y sólo permiten extrapolar las variaciones intrapoblacionales que presentan estos helmintos a partir de muy pocos datos. *N. americanus* cuenta con una secuencia completa basada en el secuenciamiento de un individuo en China y otra secuencia para el parásito desarrollada a partir de un individuo proveniente de Togo, en África subsahariana, ambas producidas por el mismo equipo de investigadores. *Ancylostoma duodenale* también fue secuenciada por estos investigadores y corresponde a un individuo de China.

Una dificultad observada en estos genomas en relación a los procedimientos convencionales para su amplificación es la alta cantidad de AT, respecto al pobre contenido de GC que presentan. Esto es problemático en tanto que la temperatura de fusión, T_m , de los oligonucleótidos usados para iniciar la síntesis por la polimerasa depende directamente contenido de GC que presenten, y en el caso estudiado en el capítulo anterior, como vimos, todos los partidores resultaron estar por debajo de los estándares ideales de contenido de GC, es decir, son partidores que se acoplan a bajas temperaturas, o más bajas al menos que las consideradas normales para un PCR. Ya indicamos que la T_a , o temperatura de apareamiento, de un PCR dado depende

directamente del largo y la composición de los partidores involucrados. Se acostumbra emplear una T_a de alrededor de unos 5° C bajo la temperatura de *melting* o fusión, T_m , más baja del par de partidores usados. El problema, en el caso de los partidores diseñados para *Necator americanus*, radica en que temperaturas de apareamiento (T_a) muy bajas promueven iniciaciones no específicas. Sin embargo, considerando las composiciones generales de los genomas investigados, ambos muy ricos en AT, estimamos que el bajo porcentaje en GC que tienen los partidores propuestos no debería constituirse en una dificultad insalvable, es decir, el descenso necesario en las temperaturas del proceso no debería conducir a un nivel de iniciaciones inespecíficas que impidieran la amplificación de las secuencias blanco esperada. Se ha demostrado que la reducción de la temperatura de extensión en PCR dirigidos a DNA ricos en A+T (regiones con hasta un ~90%) permite una mejor amplificación del molde (Su et al., 1996). Temperaturas muy altas, por otra parte, también pueden provocar problemas con la reacción de PCR al dar como resultados cantidades demasiado bajas de producto, ya que la capacidad de aparearse al DNA molde de los partidores se reduce.

Las características bajas proporciones de GC de estos genomas quizá resulten ser una dificultad aun más determinante a tener en consideración al momento de secuenciar las cadenas amplificadas mediante PCR, ya que zonas ricas en GT, GA u homopolímeros de G son difíciles de secuenciar. Estas dificultades se pueden resolver mediante modificaciones en los procedimientos de secuenciación y con la secuenciación de la cadena complementaria, lo que permitiría resolver ambigüedades.

Otra dificultad en la amplificación puede ser el producto de alteraciones en las bases nucleotídicas relacionadas con los procesos en envejecimiento del material genético, cuestión central a tener en consideración al establecer aproximaciones sobre material arqueológico o paleontológico. El daño del DNA producto de procesos químicos, como los procesos de oxidación, y por radiaciones pueden dar como resultado la modificación de bases (Höss et al., 1996). La replicación obrada por la DNA polimerasa a través de estas lesiones resultaría así en la incorporación errónea de nucleótidos. Existen

protocolos para comprobar la ocurrencia de estos fenómenos y prevenir así interpretaciones erróneas (Pääbo et al., 2004).

Una vez amplificada la región de interés, el DNA puede ser examinado mediante secuenciación directa, mediante el uso de enzimas de restricción u otros métodos para discernir las diferencias entre las secuencias de distintos individuos. Los datos resultantes pueden ser analizados de diferentes maneras en términos de reconocer patrones significativos en la variabilidad entre los individuos de un grupo. Estos métodos incluyen estadísticas de distancia genética, árboles y redes filogenéticas, y análisis de simulación, entre otros.

Sin embargo, la utilización de técnicas de este tipo en material antiguo idealmente debería ser precedida de estudios controlados en material reciente experimentalmente degradado o deshidratado (Bastos et al., 1996). Además, siempre se deben tener presentes las dificultades metodológicas en la aplicación de estas técnicas en material antiguo, sobre todo las referentes a los inhibidores de la reacción por los elementos del suelo presentes en el material arqueológico, las ya mencionadas dificultades producidas por la contaminación ambiental por DNA reciente y las relacionadas con la obtención de los partidores más confiables y específicos.

Dada la naturaleza de las muestras que pretendemos estudiar, el problema de los inhibidores del PCR es un tema relevante, ya que se trata en general de elementos que pueden localizarse en el suelo, como ácido húmico, taninos y ácido fúlvico. Generalmente estos elementos pueden ser removidos mediante determinados procesos químicos. Otros inhibidores son los llamados productos de la reacción de Maillard (glucosilación no enzimática de proteínas), resultantes de la reducción de azúcares que puede ocurrir en los ácidos nucleicos. Las inhibiciones de PCR dan patrones característicos y son detectables bajo diferentes procedimientos (O'Rourke et al., 2000).

Además, ciertas polimerasas pueden ser más susceptibles a ciertas sustancias, por lo que se debe corroborar en cada caso respecto a posibles inhibidores.

Existe otra serie de posibles dificultades en los protocolos que deben ser ajustadas antes de la realización de PCR exitosos (demasiado *dNTP* o *dNTP* degradado, errores en la concentración de $MgCl_2$, exceso de enzimas, concentración deficiente o excesiva de partidores, etc.), problemas que deben ser tenidos en cuenta, mensurados y evitados en el laboratorio.

Aunque una de las mayores ventajas que ofrece el PCR sobre otras aproximaciones es su capacidad de producir cantidades utilizables de DNA a partir de pequeñas cantidades de material biológico, aun así un problema particularmente importante en nuestro caso es la posibilidad de no tener suficiente DNA molde en las reacciones para que sea detectable y se desarrolle un PCR exitoso, debido a la naturaleza degradada, fragmentaria, extraordinaria y escasa del DNA antiguo. Para un PCR de 25 a 30 ciclos, una cantidad considerada suficiente del DNA blanco es de 10^4 copias (Promega Corporation, 2005). Un menor número de copias puede requerir un mayor número de ciclos para lograr una amplificación detectable del DNA, pero los ciclos adicionales pueden incrementar la amplificación no específica. El enfoque sobre el DNA mitocondrial y sobre una clase de material relativamente abundante es una forma de subsanar esta situación.

La extracción y el análisis apropiado de DNA antiguo es un ítem complicado, pero los métodos continúan desarrollándose y perfeccionándose. Los protocolos para prevenir y detectar la contaminación son fundamentales considerando la naturaleza extraordinaria de las muestras que se emplean en los estudios enfocados en DNA antiguo.

A pesar de que los logros de la aplicación de estas técnicas en paleoparasitología hasta ahora han sido modestos, es posible entrever su potencial para las aplicaciones de la antropología física. El secuenciamiento de ácidos nucleicos de parásitos y la

recuperación de material genético de helmintos parásitos humanos en material antiguo han permitido entrever un campo fértil para estudios sobre el origen y la evolución de las enfermedades parasitarias y sus agentes etiológicos. Una comparación de secuencias de ácidos nucleicos de parásitos separados por intervalos de tiempo de algunos miles de años podría apuntar a respuestas sobre la variación en la virulencia de algunos patógenos que, conjuntamente con los estudios de patoecología de parásitos posibilitaría un mayor entendimiento sobre la emergencia y reemergencia de enfermedades infecciosas (Araújo y Ferreira, 2000). Sobre este mismo camino, la paleoparasitología en convergencia con la antropología física contribuirá con nuevas teorías sobre relaciones parásito-huésped, desarrollando sobre todo modelos de coevolución y virulencia, relacionando los linajes de parásitos con los de sus huéspedes en términos espaciales y temporales.

10.2. CONCLUSIONES: HACIA UNA PALEOPARASITOLOGÍA GENÉTICA HUMANA DESDE LA ANTROPOLOGÍA FÍSICA

Los problemas planteados al inicio y que se resolvieron durante el desarrollo de este estudio, hasta donde los datos disponibles lo permitieron, fueron: 1) determinación de lo estrecha de la vinculación entre dos especies, el humano y el parásito a seleccionar, pues de esta relación depende lo “fiel” que sea el genoma del parásito respecto a la historia natural de su huésped, y 2) determinación de la utilidad, conveniencia y factibilidad del uso de determinados parásitos como marcadores, sus ventajas sobre los marcadores moleculares tradicionales y qué preguntas o qué clase de preguntas filogenéticas permitiría responder su empleo.

Las siguientes constituyen las consecuencias inmediatas que permitió el desarrollo de la investigación:

- a) Dar cuenta del potencial de los helmintos, no sólo como marcadores biológicos, sino también como testigo de la historia natural y cultural del ser humano, lo que es relevante en tanto consideramos la abundancia de este material en los contextos arqueológicos.
- b) Generar una completa revisión bibliográfica del estado del arte del registro y las investigaciones relacionadas con los parásitos en la arqueología chilena.
- c) Dar un paso en dirección al uso de una nueva y potencialmente prolífica área de indagación donde convergen la antropología física, la genética de poblaciones, la paleogenética y paleoparasitología.

La principal hipótesis propuesta en este estudio es que es posible, por medio de métodos moleculares aplicados a muestras de parásitos metazoos humanos obtenidos de sitios arqueológicos, en particular a sedimentos de letrinas y contenido intestinal de momias, generar nuevos marcadores moleculares para investigar la historia evolutiva y demográfica del ser humano. Si bien esto requiere ser llevado a la práctica experimental para ser bien establecido, consideramos que hemos demostrado suficientemente el potencial de esta línea de estudio. El resultado de nuestro análisis bioinformático es, por otra parte, un paso relevante en el desarrollo de aproximaciones prácticas sobre el material paleoparasitológico que no habían sido exploradas hasta el momento, menos aun en Chile.

Se ha demostrado que existen parásitos frecuentes en el registro arqueológico que pueden aportar más datos sobre la historia humana de los que hasta ahora se han obtenido a partir de su evidencia, y que para esto las herramientas de la biología molecular deben ser adoptadas por la antropología física para dirigir enfoques sobre ciertas poblaciones y procesos.

10.2.1. Perspectivas que se extrapolan de las propuestas delineadas y problemas prácticos

Estableciendo un árbol filogenético entre metapoblaciones de una especie de endoparásito con características bien estudiadas y comprendidas, como la aproximación que proponemos en torno a *Necator americanus*, se puede llegar a establecer ciertos cursos, ciertas tendencias, ciertas relaciones a ciertos niveles. Comparando las filogenias de dos parásitos se podrían confirmar tendencias demográficas que aportaran antecedentes a la reconstrucción del complejo puzzle del poblamiento inicial de América. Las extrapolaciones hechas a partir de la intolerancia al frío de los geohelminos, interpretaciones que en algunos casos llegan al extremo de afirmar que el solo dato de su presencia en el registro precolombino probaría que las tecnologías de navegación eran conocidas por el ser humano hace más de 7000 años atrás (Araújo et al., 1988), son excesivas, ya que no consideran una serie de factores. En primer lugar, como ya mencionamos, los modelos no han incluido la posibilidad del desarrollo de largas hipobiosis en las primeras uncinarias que poblaron el Nuevo Mundo. En segundo lugar, estas propuestas desestiman el ingreso de los geohelminos por una vía terrestre debido a que su supervivencia al periplo migratorio parece improbable dadas las condiciones ambientales y la velocidad con la que las poblaciones deberían haberse desplazado desde Asia a América, y a que su arribo y supervivencia sólo podría haber ocurrido en condiciones extraordinarias (Montenegro et al., 2006); sin embargo, consideran como rutas más probables, menos extraordinarias para su ingreso al continente, la intervención de pescadores asiáticos casualmente arrojados a las costas pacíficas por tormentas (Estrada y Meggers, 1961; Meggers y Evans, 1966, en Araújo et al., 1988). Finalmente, subestiman la persistencia de los parásitos en la historia natural humana y en general en la historia de la vida: habiendo una ventana de supervivencia mínima para sus condiciones adaptativas, en general logran atravesarla.

Si nos encontráramos ante dos metapoblaciones de *hookworm*, A y B, pertenecientes a dos poblaciones humanas cualquiera, cuya variabilidad genética informa de un ancestro común hace 4000 años, ¿nos permitiría eso llegar a afirmar con certeza que las poblaciones humanas que portaron dichas metapoblaciones parasitarias estuvieron en contacto o fueron la misma hace 4000 años? Probablemente no, ya que puede haber muchos fenómenos y factores que somos incapaces de detectar y conocer; pudo haber muchas rutas intermedias de traspaso para ese parásito, e incluso en contextos biológicos e históricos bien estudiados que presuntamente han aislado a una población, pueden producirse flujos genéticos ocasionales y migraciones. Por esto, una aproximación paleoparasitológica del pasado humano siempre será auxiliar a otros datos, bioantropológicos, arqueológicos e históricos.

Sin embargo, a partir de datos como los que puede entregar la comparación de dos metapoblaciones arqueológicas de un parásito que afectaron a dos poblaciones humanas arqueológicas contemporáneas entre sí, podríamos atisbar sobre aspectos como lo fluida que fue la relación entre dos (o más) sociedades: cuando la divergencia molecular entre las metapoblaciones parasitarias las hace indistinguibles podríamos inducir que dichas poblaciones humanas tienen una relación estrecha, fluida y relativamente constante. En cambio, si dos sociedades contemporáneas que comparten un parásito mostraran metapoblaciones con una elevada divergencia molecular entre ellas, podríamos inducir que se trata de grupos relativamente aislados.

La construcción de árboles filogeográficos de helmintos como *N. americanus* o *A. duodenale*, permitiría por otro lado comparar su comportamiento demográfico con los datos que poseemos sobre la filogeografía humana en América, teniendo siempre presente que estos son parásitos que afectan exclusivamente a poblaciones humanas.

Proponemos que la orientación que debe tomar una aproximación paleogenética de parásitos metazoos a partir de los resultados aportados aquí debe tener en cuenta los siguientes puntos:

- a) Es esencial el diseño de investigaciones bioantropológicas y arqueológicas que hagan un acopio dirigido de los restos que presuntamente pueden contener evidencias paleoparasitológicas. Por ejemplo, una buena aproximación sería el estudio de colecciones de momias en busca de muestras de contenido anorrectal que puedan producir huevos de helmintos. Por otro lado, las investigaciones arqueológicas deberían incluir entre sus protocolos el reconocimiento y recolección de coprolitos y la toma de muestras de la zona abdominal de los enterratorios.
- b) La realización de más secuenciamientos de genomas mitocondriales de *Necator americanus* sería útil para atestiguar el valor diferenciador de esta especie, respecto a *A. duodenale*, de los partidores diseñados. Sin embargo, dichos partidores que apuntan a sitios polimórficos en relación a la especie hermana, ya permitirían ejecutar aproximaciones en torno al reconocimiento en muestras arqueológicas de infecciones por *N. americanus*. En este sentido un buen primer paso lo constituiría la realización de PCR en muestras donde mediante análisis microscópicos ya hayan sido diagnosticada la presencia de huevos de uncinarias. Mediante un experimento de esas características sería posible probar dos cosas: 1) que es posible amplificar genes mitocondriales de helmintos (de éste en particular) en muestras antiguas y degradadas, y 2) que los partidores diseñados funcionan y representan una buena herramienta para el diagnóstico.
- c) Otra aproximación sería ejecutar una indagación más extensa sobre los genomas mitocondriales disponibles de *N. americanus* y *A. duodenale* buscando mejores secuencias blancas para la amplificación según los diferentes criterios que ya discutimos en el capítulo anterior.

- d) Una vez que se posee una herramienta para el diagnóstico diferencial de *N. americanus* y *A. duodenale* es posible afrontar estudios de mayor profundidad que sigan las líneas teóricas esgrimidas en nuestra propuesta.

Árboles de genes (filogenéticos desarrollados a partir de secuencias individuales) concordantes se obtienen entre huéspedes y parásitos cuando el flujo genético y las migraciones (cambio de huésped) son eliminados simultáneamente entre las poblaciones de parásitos y huéspedes (Rannala y Michalakis, 2003). El aislamiento genético y físico de los primeros pobladores de América portadores de parásitos como *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale* y *Enterobius vermicularis*, plantea una posibilidad única de indagar en la colonización de América desde la perspectiva de la paleoparasitología. Por esto, por las posibilidades que abre esta ruta de indagación a la larga, es importante desarrollar las herramientas que permitan el análisis molecular de estos parásitos. Como hemos visto, *N. americanus* se plantea como un buen candidato para ensayar una primera aproximación a estas perspectivas de estudio.

10.2.2. Avalando la aplicación de la (paleo) parasitología en las disciplinas que estudian la variabilidad humana desde las nuevas herramientas de la ciencia molecular y genética. Reflexiones finales.

El problema de la paleogenética aplicada sobre coprolitos, que es la principal evidencia que maneja el paleoparasitólogo, es el grado de degradación que puede presentar el material genético antiguo, producto de los procesos que ocurren naturalmente sobre estas moléculas, pero exacerbada por la corrupción a la que puede verse sometido debido a las sustancias que se encuentran en las materias fecales. Otro problema a tener presente es la contaminación con DNA moderno, lo cual al tratarse de especies como los helmintos es una dificultad más fácil de sortear trabajando en laboratorios donde no

pueda haber contaminación por dichos animales. Se suma a estas dificultades otros factores como lo escasas que pueden ser las evidencias paleoparasitológicas y los sesgos que éstas presentan debido a las condiciones en que es factible que se conserven. A pesar de todos estos problemas, se ha demostrado que es posible recuperar e identificar secuencias de DNA antiguo desde los huevos de helmintos presentes en los coprolitos, tanto tomando los coprolitos mismos como el objeto de estudio, pulverizándolos para la realización del PCR (Iñiguez et al, 2003b), como extrayendo los huevos presentes en éstos para obtener directamente de ellos el material genético (Loreille et al., 2001). A medida que las investigaciones en este sentido avancen y se hagan más numerosas y a que las técnicas se perfeccionen, será posible ir llevando a la práctica las propuestas teóricas contenidas en el presente estudio.

La calidad de las muestras empleadas es un factor clave para conseguir resultados que sean confiables. Se deben tomar medidas para impedir la contaminación de los sedimentos y coprolitos que se recojan en los sitios arqueológicos y vincular los datos paleoparasitológicos con la información arqueológica contextual. Pero, en primer lugar, lo esencial es considerar el problema paleoparasitológico desde el momento mismo de planear la intervención arqueológica, de manera de asegurar el rescate de las muestras indicadas (coprolitos y sedimentos, para efecto de ejecutar los controles adecuados, así como también sedimentos asociados al área pélvica de los esqueletos) y en un volumen suficiente. Respecto a los sedimentos del área pélvica, en los que se esperaría la depositación post mortem del contenido abdominal y que podrían albergar huellas de la dieta y de infecciones helmínticas, es importante señalar que a pesar de que constituyen un material complejo en términos de diagnóstico paleoparasitológico, son por otro lado una fuente potencial para estudios paleoepidemiológicos, ya que los resultados paleopatológicos pueden asociarse con datos como la edad y el sexo de los individuos, lo que no es posible hacer con coprolitos obtenidos de letrinas, y adicionalmente, dentro del contexto de la paleoparasitología de la Patagonia y en general de la zona meridional del continente sudamericano, donde es improbable la conservación de las heces

humanas, los sedimentos del área pélvica de los enterratorios se constituyen en el material por excelencia y las investigaciones paleopatológicas deberían considerarlo de ese modo, de manera de realizar correctamente la recolección *in situ* de estos vestigios.

Pero aun es raro que la paleopatología humana se interese en los parásitos, en particular en los endoparásitos helmintos. Los estudios paleopatológicos sobre parásitos cuyo desarrollo ha sido más próspero son aquellos cuyo objeto de análisis está más próximo a una corriente de la paleopatología emparentada directamente con los desarrollos de la microbiología, como son algunos interesantes estudios enfocados en virus humanos, como el caso de HTLV (eg. Neel et al., 1994; Li et al., 1999) o el polyomavirus JC (eg. Sugimoto et al., 1997), u otros dirigidos a protozoos, por ejemplo los notables estudios sobre *Tripanosoma cruzi* (eg. Guhl et al., 1999), que han permitido la generación de áreas de trabajo, de estudios de largo plazo y la creación de nuevas hipótesis de profundo alcance. En cambio, la paleopatología de parásitos metazoos ha mantenido hasta el día de hoy un perfil más bien bajo, aunque hace décadas se han ido sucediendo diversos estudios, relativamente aislados y cuyo impacto ha sido bajo, a pesar de que en algunos casos se han propuesto interesantes líneas de investigación. Sin embargo, la mayoría de los informes que incluyen datos paleoparasitológicos de organismos metazoos corresponden, como se ha indicado antes, al reporte de casos aislados y son pocos los investigadores que han buscado en estas evidencias material para la persecución de teorías globales o de más amplio rango mediante estudios poblacionales.

Existen muchas razones que pueden explicar la diferente acogida que tienen los estudios paleopatológicos de helmintos respecto a los relativos a parásitos unicelulares. Entre otras, podemos mencionar la profusión de los estudios microbiológicos en otras áreas; los desarrollos técnicos de ésta disciplina, que posibilitan la investigación sobre esta clase de parásitos cuya impronta directa debería poder ser encontrada en ciertos materiales orgánicos más o menos comunes, como los huesos; así también, es fundamental que se trata de enfermedades cuyo efecto en el mundo actual es importante

(en términos económicos, epidemiológicos, demográficos), de manera que la comprensión del origen de dichas dolencias sirve de una u otra forma a las investigaciones médicas y en el área de salud pública. Alejados de este tipo de organismos unicelulares, ya protozoos, ya virus o bacterias, y del tipo de contextos sociales y lógicos en que se han desarrollado sus campos de estudios, los helmintos pertenecen a una categoría de enfermedad que en primer lugar, y de forma determinante, es estudiada por otra clase de científicos cuyos logros son más modestos, encontrándose en una segunda línea respecto a la microbiología y sus avances. No es menor la denominación de “Medicina Tropical” que se le ha dado históricamente al área de la medicina que estudia esta clase de enfermedades monstruosas y exóticas: es una medicina, pero marginal, de los trópicos, y muy cercana a lo animal, a la naturaleza. El estudio de los gusanos que infestan al ser humano ha sido por mucho tiempo visto más como una curiosidad, como un remanente de los intereses de los naturalistas de antaño, implicados en describir animales y enfermedades raras en los confines del mundo, que como un estudio científico serio que pueda apoyar e incrementar nuestro conocimiento del mundo que nos rodea y de nosotros mismos. A esto hay que añadir, por otro lado, que las culturas más azuzadas por estos parásitos habitan el tercer mundo más profundo, y no es sólo su pobreza y otros aspectos culturales los que propician la infestación masiva, también y principalmente tiene que ver con su localización geográfica. Los países del primer mundo, desde donde la ciencia se origina y se distribuye, situados en altas latitudes, se ven libres de muchos de los males que encontramos a medida que nos acercamos a los trópicos. Sin embargo, los antropólogos físicos no podemos olvidarnos de algo: el medio ancestral de los seres humanos se ubica allí, entre los trópicos y cercano al Ecuador, por lo que al menos cabe preguntarse si aquellos organismos que nos acompañan desde entonces pueden contarnos una parte de la historia sobre nosotros mismos que otras patologías no pueden. “Los trópicos no son tanto exóticos cuanto pasados de moda.”, dijo alguna vez Levi-Strauss (1988, pg. 89); “Lo que los caracteriza no es la vegetación, sino menudos detalles de arquitectura, así como la sugestión de un género de vida que, antes que convencernos de haber franqueado inmensos espacios, nos

persuade de que hemos retrocedido imperceptiblemente en el tiempo.”, y aunque el famoso etnólogo se refería a escalas de tiempo mucho más modestas, lo que hay en los trópicos, aquello que le es propio a la Medicina Tropical, son rastros de esa ecología en la cual nuestra especie se forjó, y aunque parece que fuera una historia muy larga la nuestra como especie, aunque a veces sintamos que ya hemos dejado atrás los trópicos, en realidad todavía nos definen. No obstante todo esto, los helmintos son animales persistentes, y están presentes aun en los países más desarrollados y apartados en todo sentido de los países tropicales, aunque no constituyan un problema importante de salud pública.

A parte de estas razones históricas y culturales que han delineado la escasa representación en los estudios paleopatológicos de las enfermedades que producen los helmintos, existen motivos lógicos e intrínsecos a la naturaleza de estos organismos que los han hecho hasta ahora menos susceptibles de ser objeto de la indagación bioantropológica. Estos motivos dicen relación con sus características biológicas, que en general inciden en que sus efectos puedan ser catalogados como enfermedades “leves”, de segunda línea en términos de salud pública, no sólo debido a su distribución geográfica, también a que comúnmente se manifiestan de forma crónica, muchas veces delineando estados asintomáticos o sintomatologías inespecíficas, es decir, siendo poco llamativos. Los helmintos sólo son llamativos en tanto animales, no como enfermedades, y por eso se encuentran en cierto modo disociados del ser humano y también de la paleopatología. Es cuestión de ver la escasa representación que tienen esta clase de afecciones en los manuales de la disciplina, lo cual no se le puede achacar a una falta de pericia de los investigadores y autores que han forjado la disciplina. Por el contrario, ellos saben muy bien que si una enfermedad no deja huella no significa que no haya existido, pero sí que tiene escaso o nulo valor en términos informativos. Sin embargo, ésta corresponde a una visión “catastrófica” de la enfermedad: las patologías deben dejar huella en los huesos y en los tejidos conservados. Los helmintos, después de todo, son animales externos a nosotros; a diferencia de protozoos y bacterias, no circulan por

nuestras arterias y, salvo casos excepcionales, no se alojan en nuestros huesos. No utilizan el metabolismo de nuestras células para replicarse como hacen los virus. No sólo son exóticos, también son exógenos, no se integran a nuestro organismo ¿qué podríamos aprender de ellos que nos hable acerca de nosotros, que es el fin último de toda ciencia, y particularmente de la antropología? Pero esta disociación es sólo aparente. Hoy podemos “ver” a aquellas enfermedades que no matan y que apenas hieren. Tenemos cada día mejores herramientas para indagar en esa enfermedad cotidiana, y es posible que ella nos informe con mucha mayor profundidad de ciertos aspectos de la vida “común”, no patológica, de los seres humanos del pasado. Quizá la enfermedad que provocan los helmintos no está en los huesos, ni siquiera en los tejidos mejor momificados. Sin embargo, fue una enfermedad totalmente presente en las sociedades del pasado, mucho más que exóticas dolencias óseas muy bien estudiadas por los paleopatólogos. Esta deficiencia dentro del seno de la paleopatología no es, como hemos dicho, achacable a la disciplina o a sus representantes. Hay que tener en cuenta que en la “naturaleza” misma de las enfermedades parasitarias, es decir, en la forma en que eran comprendidas por la biología hasta hace poco, había pocas razones para suponer que de su estudio podríamos extrapolar algo sobre la historia natural de los huéspedes: no se habían desarrollado las teorías ni las herramientas técnicas para poder sugerirlo. Los indicadores óseos de estrés, tales como las líneas de Harris o la hipoplasia del esmalte, si bien han permitido generar modelos y propuestas al correlacionarlos con antecedentes culturales, como cambios en los patrones de asentamiento y de subsistencia, siempre han constituido evidencias demasiado inespecíficas y hasta ambiguas como para asentar dichas ideas. Pero ahora tenemos las herramientas para hacer que estos parásitos, que están en múltiples aspectos mucho más integrados al ser humano y a sus sociedades y son menos disociables de ellas, nos cuenten una historia de la que podemos sacar provecho. Hace falta un cambio de visión en este sentido, una mirada si se quiere más ecológica o más sistémica. Ya lo hemos señalado: somos el medio ambiente de los helmintos, quizá mucho más que el de algunas bacterias y virus.

11. BIBLIOGRAFÍA

Albonico, M, R.J. Stoltzfus, L. Savioli, J.M. Tielsch, H.M. Chwaya, E. Ercolef y G. Cancrini. 1998. Epidemiological evidence for a differential effect of hookworm species, *Ancylostoma duodenale* or *Necator americanus*, on iron status of children. *International Journal of Epidemiology* 27: 530-537.

Allison, M.J. y E. Gerszten. 1977. Paleopathology in Peruvian Mummies. Application of Modern Techniques. Medical College of Virginia, Department of Pathology, Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia.

Araújo, A. y L.F. Ferreira. 1995. Oxyuriasis and prehistoric migrations. *História, Ciências, Saúde - Manguinhos* II (1): 99-109.

Araújo, A., L.F. Ferreira, U. Confalonieri y M. Chame. 1988. Hookworms and the peopling of America. *Cadernos de Saúde Pública* 3 (4): 226-233.

Araújo, A., K. Reinhard, O.M. Bastos, L.C. Costa, C. Pirmez, A. Iñiguez, A.C. Vicente, C.M. Morel, L.F. Ferrerira. 1998. Paleoparasitology: Perspectives with new techniques. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 40: 371-376.

Araújo, A. y L.F. Ferreira. 2000. Paleoparasitology and the antiquity of human host-parasite relationships. *Mem Ins. Oswaldo Cruz* 95: 89 - 93.

Araújo, A, A.M. Jensen, F. Bouchet, K. Reinhard, L.F. Ferreira. 2003. Parasitism, the diversity of life and paleoparasitology. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 5 - 11.

Aufderheide,A.C., S. Aturaliya y G. Focacci. 2002. Pulmonary Disease in a Sample of

Mummies from the AZ-75 Cemetery in Northern Chile's Azapa Valley. *Chungará* 34 (2): 253 - 263.

Aufderheide, A.C., W. Salo, M. Madden, J. Streitz, J. Buikstra, F. Guhl, B. Arriaza, C. Renier, L.E. Wittmer, Jr., G. Fornaciari y M. Allison. 2004. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proc Natl Acad Sci* 101 (7): 2034–2039.

Aufderheide A.C. y C. Rodríguez-Martín. 1998. The Cambridge Encyclopedia of Human Paleoparasitology. Cambridge University Press, UK.: 222 – 246.

Avise, J.C. 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution. Sunderland, Sinauer Associates. 684 páginas.

Barberena, R., A. Blasi y C. Castiñeira. 2006. Geoarqueología en cuevas: el sitio Orejas de Burro 1 (Pali Aike, Argentina). *Magallania* 34(1): 119-138.

Bastos, O.M., A. Araújo, L.F. Ferreira, A. Santoro, P. Wincker, and C.M. Morel 1996 Experimental Paleoparasitology: Identification of *Trypanosoma cruzi* in Desiccated Mouse Tissues. *Paleopathology Newsletter* 94: 5-8.

Benson, D.A., I. Karsch-Mizrachi, D.J. Lipman, J. Ostell y D.L. Wheeler. 2004. Genbank: update. *Nucleic Acids Research* 32: D23-D26.

Blom, D., J.E. Buikstra, L. Keng, P.D. Tomczak, E. Shoreman y D. Stevens-Tuttle. 2005. Anemia and Childhood Mortality: Latitudinal Patterning Along the Coast of Pre-Columbian Peru. *Am J Phys Anthropol* 127:152–169.

Blouin, M.S., Yowell, C.A., Courtney, C.H., Dame, J.B., 1998. Substitution bias, rapid saturation, and the use of mtDNA for nematode systematics. *Mol Biol Evol* 15, 1719–27.

Blouin, M.S. 2002. Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. *International Journal for Parasitology* 32: 527 - 531.

Bonatto, S.L. y F.M. Salzano. 1997. Diversity and age of the four major mtDNA haplogroups, and their implications for the peopling of the new world. *Am J Hum Genet* 61: 1412-1423.

Borrero, L.A. 2001. El poblamiento de la Patagonia. Toldos, milodones, volcanes. Emecé, Buenos Aires.

Botero, D. y M. Restrepo. 2003. Parasitosis Humanas. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia.

Bouchet, F., N. Guidon, K. Dittmar, S. Harter, F. Ferreira, S. Miranda, K. Reinhard y A. Araújo. 2003. Parasite remains in archaeological sites. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 47 - 52.

Brown, H. y D.L. Belding. 1965. Parasitología Clínica. Editorial Interamericana, México. 362 páginas.

Caballero, M.L. 1998. Inmunología de la infección por helmintos. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 13: 297 - 313.

Cabrera, M., M. Verástegui y R. Cabrera. 2005. Prevalencia de enteroparasitosis en una comunidad altoandina de la Provincia de Víctor Fajardo, Ayacucho, Perú. *Rev Gastroenterol Perú* 25: 150-155.

Chandler, A.C. 1955. *Introduction to Parasitology*, 7th ed. New York: John Wiley; London: Chapman & Hall. 716 páginas.

Chame, M. 2003. Terrestrial Mammal Feces: a Morphometric Summary and Description. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98 (Suppl. I): 71-94.

Chaves da Rocha, G., S. Harter- Lailheugue, M. Le Bailly, A. Araújo, L. F. Ferreira, N. M. da Serra-Freire y F. Bouchet. 2006. Paleoparasitological remains revealed by seven historic contexts from “Place d’ Armes”, Namur, Belgium. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(Suppl. II): 43-52.

Costa-Junqueira, M.A., J.A. Cocilovo y S. Quevedo. 2000. Patologías óseas, traumas y otros atributos en el grupo arcaico de morro de Arica, Norte de Chile. *Chungara* 32 (1): 78-83.

Cox, F.E. 2002. History of Human Parasitology. *Clinical Microbiology Reviews* 15: 595-612.

Crompton, D.W. 2000. The public health importance of hookworm disease. *Parasitology* 121 (Suppl): 39 - 50.

Darwin, C. 1939. *El Origen del Hombre*. Editorial Zig-Zag, Santiago de Chile: 38 – 39.

Darwin, C. 1996. Capítulo XII, *Distribución Geográfica*. En: *El Origen de las Especies*, Tomo III. Editorial Edaf. 544 páginas.

Gruijter, de, J.M., L. van Lieshout, R.B. Gasser, J.J. Verweij, E.A.T. Brienen, J.B. Ziem, L. Yelifari y A.M. Polderman. 2005. Polymerase chain reaction-based differential

diagnosis of *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* infections in humans in northern Ghana. *Tropical Medicine and International Health* 10 (6): 574-580.

Denver, D.R., Morris, K., Lynch, M., Vassilieva, L., Thomas, W.K., 2000. High direct estimate of the mutation rate in the mitochondrial genome of *Caenorhabditis elegans*. *Science* 289: 2342–2344.

Dixon, E.J. 2001. Human Colonization of the Americas: timing, technology and process. *Quaternary Science Reviews* 20: 277-299.

Drancourt, M., G. Aboudharam, M. Signoli, O. Dutour, Y D. Raoult. 1998. Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: An approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proc Natl Acad Sci* 95: 12637–12640.

Evans, A.G. y T.E. Wellems. 2002. Coevolutionary Genetics of *Plasmodium* Malaria Parasites and Their Human Hosts. *Integ and Comp Biol* 42: 401–407.

Ferreira, L.F., B. Martins, A. Araújo, U.E. Confalonieri y L. Nuñez. 1985. Infecção por *Enterobius vermicularis* em população pré-colombianas no Chile. *Cadernos de Saúde Pública* 1 (1).

Fouant, M.M., M. Allison, E. Gerszten, G. Focacci. 1982. Parásitos intestinales entre los indígenas precolombinos. *Chungará* 9: 285 – 299.

Fugassa, M. y R. Guichón. 2005. Análisis Paleoparasitológico de Coprolitos Hallados en Sitios Arqueológicos de Patagonia Austral: Definiciones y Perspectivas. *Magallania* 33 (2): 13 – 19.

Fugassa, M.. 2006 Examen paleoparasitológico de sedimentos de un sitio arqueológico, Río Mayo, Chubut, Argentina. *Parasitol Latinoam* 61: 172–175.

Fugassa, M. y R. Barberena. 2006. Cuevas y zoonosis antiguas: paleoparasitología del sitio orejas de burro 1 (Santa Cruz, Argentina). *Magallania* 34 (2): 57-62.

Fugassa, M., A. Araújo y R.A. Guichón. 2006. Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(Suppl. II): 29-33.

Golenberg, E.M., A. Bickel y P. Weihs. 1996. Effect of highly fragmented DNA on PCR. *Nucleic Acids Research* 24 (24): 5026–5033.

Goldsmid, J.M., y P.A. Leggat. 2005. Primer of Tropical Medicine. Chapter 4: Custom, culture and health in the tropics. The Australasian College of Tropical Medicine Publications. Internet Edition. <http://www.tropmed.org>.

Gonçalvez, M.L.C. 2002. Paleoparasitologia no Brasil. *Ciencia & Saúde Coletiva* 7 (1): 191 – 196.

Gonçalves, M.L.C., A. Araújo y L.F. Ferreria. 2003. Human intestinal parasites in the past: New findings and a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 103-118.

Gould, S.J. 1986. El Pulgar del Panda. Editorial Hyspamerica, Madrid. 352 páginas: 272.

Guhl, F., C. Jaramillo, G.A. Vallejo, R. Yockteng, F. Cardenas-Arroyo, G. Fornaciari, B. Arriaza y A. Aufderheide. 1999. Isolation of *Trypanosoma cruzi* DNA in 4.000-year-old mummified human tissue from northern Chile. *American Journal of Physical Anthropology* 108: 401 – 407.

Guichón, R.A., J.A. Suby, R. Casali, M.H. Fugassa. 2006. Health at the time of Native-European contact in Southern Patagonia. First steps, results, and prospects. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(Suppl. II): 97-105.

Guerra, F. y M.C. Sánchez Téllez. 1990. Las Enfermedades del Hombre Americano. *Quinto Centenario* 16: 19 - 53.

Han, E.T., S.M. Guk, J.L. Kim, H.J. Jeong, S.N. Kim y J.Y. Chai. 2003. Detection of Parasite Eggs from Archaeological Excavations in the Republic of Korea. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98 (Suppl. I): 123-126.

Hamilton, M.J. y B. Buchanan. 2007. Spatial gradients in Clovis-age radiocarbon dates across North America suggest rapid colonization from the north. *Proc Natl Acad Sci* 104 (40): 15625–15630.

Hey, J. 2005. On the Number of New World Founders: A Population Genetic Portrait of the Peopling of the Americas. *PLoS Biol* 3 (6): e193.

Horne, P.D. 1985. A review of the evidence of human endoparasitism in the pre-columbian new world through the study of coprolites. *Journal of Archaeological Science* 12: 299-310.

Höss, M., P. Jaruga, T.H. Zastawny, M. Dizdaroglu y S. Pääbo. 1996. DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues. *Nucleic Acids Research* 24 (7): 1304–1307.

Hotez P.T., J. Bethony, M.E. Bottazzi, S. Brooker y P. Buss. 2005. Hookworm: “The Great Infection of Mankind”. *PLoS Medicine* 2 (3): 0187-0191.

Hu, M., N.B. Chilton y R.B. Gasser. 2002. The mitochondrial genomes of the human hookworms, *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* (Nematoda: Secernentea). *International Journal for Parasitology* 32: 145-158.

Hu, M., N.B. Chilton, Y.G. Abs El-Osta, R.B. Gasser. 2003. Comparative analysisi of mitochondrial genome data for *Necator americanus* from two endemic regions reveals substantial genetic variation. *International Journal for Parasitology* 33: 955-963.

Huysse T, Poulin R, Théron A. 2005. Speciation in parasites: a population genetics approach. *TRENDS in Parasitology* 21 (10): 469 - 475.

Intapan, P.M., C. Wongkham, K.J. Imtawil, W. Pumidonming, T.K. Prasongdee, M. Miwa y W. Maleewong. 2005. Detection of *Paragonimus heterotremus* Eggs in Experimentally Infected Cats by a Polymerase Chain Reaction–Based Method. *J Parasitol* 91(1): 195–198.

Iñiguez, A.M., A. Araújo, L.F. Ferreira, A.C. Vicente. 2003a. Analysis of ancient DNA from coprolites: A perspective with random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction approach. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 63 - 65.

Iñiguez, A.M., K. Reinhard, A. Araújo, L.F. Ferreira y A.C. Vicente. 2003b. *Enterobius vermicularis*: Ancient DNA from north and south american human coprolites. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 67 - 69.

Iñiguez, A.M., K. Reinhard, M.L.C. Gonçalves, L.F. Ferreira, A. Araújo y A.C.P. Vicente. 2006. SL1 RNA gene recovery from *Enterobius vermicularis* ancient DNA in pre-Columbian human coprolites. *International Journal for Parasitology* 36 (13): 1419-1425.

Karafet, T., S.L. Zegura, J. Vuturo-Brady, O. Posukh, L. Osipova, V. Wiebe, F. Romero, J.C. Long, S. Harihara, F. Jin, B. Dash yam, T. Gerelsaikham, K. Omoto y M.G. Hammer. 1997. Y Chromosome Markers and Trans-Bering Strait Dispersals. *Am J Phys Anthropol* 102: 301-314.

Kaestle, F.A. y K. A. Horsburgh. 2002. Ancient DNA in Anthropology: Methods, Applications, and Ethics. *Yearbook of Physical Anthropology* 45: 92–130.

Kimura, M. 1991. Recent Development of the Neutral Theory Viewed from the Wrightian Tradition of Theoretical Population Genetics. *Proc Natl Acad Sci* 88: 5969-5973.

Kolman, C.J., A. Centurion-Lara, S.A. Lukehart, D.W. Owsley y N. Tuross. 1999. Identification of *Treponema pallidum* Subspecies *pallidum* in a 200-Year-Old Skeletal Specimen. *The Journal of Infectious Disease* 180: 2060-2063.

Konomi, N., E. Lebowhl, K. Mowbray, I. Tattersall y D. Zhang. 2002. Dtection of Mycobacterial DNA in Andean Mummies. *Journal of Clinical Microbiology* 40: 4738-4740.

Levi-Strauss, C. 1995. Antropología Estructural. Ediciones Paidós Ibérica, S.A., Barcelona: 365 – 366.

Levi-Strauss, C. 1988. Tristes Trópicos. Ediciones Paidós Ibérica, S.A., Barcelona: 89.

Li, H., T. Fujiyoshi, H. Lou, S. Yashiki, S. Sonoda, L. Cartier, L. Nuñez, I. Muñoz, S. Horai y K. Tajima. 1999. The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. *Nature Medicine* 5: 1428 - 1432.

Lilley, B., P. Lammie, J. Dickerson y M. Eberhard. 1997. An Increase in Hookworm Infection Temporally Associated With Ecologic Change. *Emerging Infectious Diseases* 3 (3): 1-3.

Loreille, O. y F. Bouchet. 2003. Evolution of *Ascaris* in Humans and Pigs: A multi-disciplinary approach. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98 (I): 39 – 46.

Loreille, O., E. Roumat, O. Verneau, F. Bouchet y C. Hänni. 2001. Ancient DNA from *Ascaris*: extraction amplification and sequences from eggs collected in coprolites. *International Journal for Parasitology* 31: 1101 – 1106.

Loukas, A. y P. Prociv. 2001. Immune Responses in Hookworm Infections. *Clinical Microbiology Reviews* 14 (4): 689-703.

Machado, E., J.A. Santos, E.V. Villela, A.N. Duarte, L.F. Ferreira y A.R. Bello. 2003. Random Amplified Polymorphic DNA Analysis of DNA Extracted from *Trichuris trichiura* (Linnaeus, 1771) Eggs and its Prospective Application to Paleoparasitological Studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98 (Supl. I): 59-62.

Macnish, M.G., U.M. Ryan, J.M. Behnke y M.C.A. Thompson. 2003. Detection of the rodent tapeworm *Rodentolepis* (= *Hymenolepis*) *microstoma* in humans. A new zoonosis?. *International Journal for Parasitology* 33: 1079-1085.

Macpherson, C.N.L. 2005. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology* 35: 1319-1331.

Malhi, R.S., J.A. Eshleman, J.A. Greenberg, D.A. Weiss, B.A. Schultz, F.A. Kaestle, J.G. Lorenz, B.M. Kemp, J.R. Johnson y D.G. Smith. 2002. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. *Am J Hum Genet* 70: 905-919.

Matsu, A., M. Kanehara y M. Kanehara. 2003. Paleoparasitology en Japan – Discovery of Toilet Features. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 127-136.

Maynard Smith, J. 1998. *Evolutionary Genetics*. Oxford University Press, USA; 2° edition. 354 páginas.

Montenegro, A., A. Araújo, M. Eby, L.F. Ferreira, R. Hetherington y A.J. Weaver. 2006. Parasites, Paleoclimate, and the Peopling of the Americas. Using the Hookworm to Time the Clovis Migration. *Current Anthropology* 47: 193-200.

Montenegro, A., R. Hetherington, M. Eby y A.J. Weaver. 2006. Modelling pre-historic transoceanic crossing into the Americas. *Quaternary Science Reviews* 25: 1323-1338.

Morán, E. F. 1990. *La Ecología Humana de los Pueblos de la Amazonía*. Fondo de Cultura Económica, México. 325 páginas.

Murphy, R.W., J.W. Sites, Jr., D.G. Buth, y C.H. Haufler. 1996. Chapter 4. Proteins: Isozyme Electrophoresis. En: *Molecular Systematics, Second Edition*. Editado por David M. Hillis, Craig Moritz y Barbara K. Mable. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts U.S.A.

Murra, J. 1975. El control vertical de un máximo de pisos ecológicos en la economía de las sociedades andinas. En: *Formaciones económicas y políticas del mundo andino*. Lima, I.E.P.

- Nason, A. 1973. *Biología*. Editorial Limusa-Wiley, S.A., México. 725 páginas.
- Neel, J.V., R.J. Biggar y R.I. Sukernik. 1994. Virologic and genetic studies relate Amerind origins to the indigenous people of the Mongolia / Manchuria / southeastern Siberia region. *Proc Natl Acad Sci* 91: 10737-10741.
- Ocampo-Gómez, G., R. Salgado y J.R. Bobadilla. 1992. La omnipresencia de las helmintiasis. *Salud Pública de México* 34: 357 – 360.
- O’Lorcain, P. y C.V. Holland. 2000. The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. *Parasitology* 121: S51 - S71.
- O’Rourke, D.H., M.G. Hayes y S.W. Carlyle. 2000. Ancient DNA Studies in Physical Anthropology. *Annu Rev Anthropol* 29: 217-242.
- Pääbo, S., H. Pionar, D. Serre, V. Jaenicke-Després, J. Hebler, N. Rohland, M. Kuch, J. Krause, L. Vigilant y M. Hofreiter. 2004. Genetic analyses from ancient DNA. *Annu Rev Genet* 38: 645 – 679.
- Pakendorf, B. y M. Stoneking. 2005. Mitochondrial DNA and Human Evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6: 165-183.
- Page, R.D.M. 2003. Introduction. En: *Tangled Tress. Phylogeny, Coespeciation and Coevolution*. Editado por Roderic D.M. Page. The University of Chicago Press, USA. 350 páginas.

Page, R.D.M., P.L.M. Lee, S.A. Becher, R. Griffiths y D.H. Clayton. 1998. A Different Tempo of Mitochondrial DNA Evolution in Birds and their Parasitic Lice. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9 (2): 276–293.

Pavesi, A. 2005. Microbes coevolving with human host and ancient human migrations. *Journal of Anthropological Sciences* 83: 9-28.

Pritchard, D.I. y A. Brown. 2001. Is *Necator americanus* approaching a mutualistic symbiotic relationship with humans?. *TRENDS in Parasitology* 17 (4): 169 – 172.

Promega Corporation. 2005. Technical Bulletin. PCR Core Systems, instructions for use of products m7660 and m7665. Madison, WI, USA: 5.

Rannala, B. y Y. Michalakis. 2003. Population genetics and coespeciation: from process to pattern. En: Tangled Tress. Phylogeny, Coespeciation and Coevolution. Editado por Roderic D.M. Page. The University of Chicago Press, USA. 350 páginas.

Reed, D.L., V.S. Smith, S.L. Hammond, A.R. Rogers y D.H. Clayton. 2004. Genetic analysis of lice supports direct contact between modern and archaic humans. *PloS Biol* 2 (11): e340.

Reinhard, K., y O. Urban. 2003. Diagnosing ancient Diphyllbothriasis from Chinchorro mummies. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 191- 193.

Rodríguez-Martín, C. 2000. Manifestaciones esqueléticas de las enfermedades parasitarias. *Chungará* 32 (1): 117-121.

Romero, J.R. y C.A. Boero. 2001. Epidemiología de la Gastroenteritis Verminosa de los Ovinos en las Regiones Templadas y Cálidas de la Argentina. *Analecta Veterinaria* 21 (1): 21-37.

Rothschild, B.M. 2000. Porotic Hiperostosis as a manifestation of iron deficiency?. *Chungará* 32 (1): 85-87.

Sagua, H., I. Neira y J. Araya. 2001. Nuevos casos de infección humana por *Diphyllobothrium pacificum* (Nybelin, 1931) en Chile y su probable relación con el fenómeno de El Niño, 1975-2000. *Bol Chil Parasitol* 56 (1-2): 22-25.

Salzano, F.M. y S.M. Callegari-Jacques. 1988. South American Indians: A case study in evolution. Research monographs on human population biology, No. 6. New York: Oxford University Press. 259 páginas.

Santoro, C., S.D. Vinton y K. Reinhard. 2003. Inca expansion and parasitism in the Lluta valley: preliminary data. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 161-163.

Semenas, L. y C. Ubeda. 1997. Human diphyllbothriasis in Patagonia, Argentina. *Rev Saúde Pública* 31 (3): 302-307.

Schurr, T.G. 2004. The Peopling of The New World: Perspectives from Molecular Anthropology. *Annu Rev Anthropol* 33: 551-583.

Soler, M. 2002. Capítulo 12: Coevolución. En: Evolución: La base de la biología. Coord. Manuel Soler. Ed. Proyecto Sur, España.

Stephenson, L.S., C.V. Holland y E.S. Cooper. 2000. The public health significance of *Trichuris trichiura*. *Parasitology* 121: S73-S95.

Straus, L.G., D.J. Meltzer y T. Goebel. 2005. Ice Age Atlantis? Exploring the Solutrean-Clovis 'connection'. *World Archaeology* 37 (4): 507-532.

Steele, D.G. y J.F. Powell. 1992. Paleobiological Evidence of the Peopling of the Americas: A Morphometric View. En: *Method and Theory for Investigating the Peopling of the Americas*. Editado por Robson Bonnichsen y D. Gnetry Steele. Center for the Study of the First Americans, Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.

Sugimoto, C., T. Kitamura, J. Guo, M.N. Al-Ahdal, S. N. Shchelkunov, et al. 1997. Typing of urinary JC virus DNA offers a novel means of tracing human migrations. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 9191-9196.

Suby, J.A., R.A. Guichón, M. Salemme y F. Santiago F. 2006. Possibilities and Limitations of Human Bone Record in Southern Patagonia. *FUMDHAMentos* VII: 348-363.

Surovell, T.A. 2003. Simulating Coastal Migration in New World Colonization. *Current Anthropology* 44: 580-591.

Tamm, E., T. Kivisild, M. Reidla, M. Metspalu, D.G. Smith, et al. 2007. Beringian Standstill and Spread of Native American Founders. *PLoS ONE* 2 (9): e829. doi:10.1371/journal.pone.0000829

Thompson, J.D., D.G. Higgins y T.J. Gibson. 1994. CLUSTAL W improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22: 4673-4680.

Vélez, I., L.E. Velásquez e I.D. Vélez. 2003. Morphological Description and Life Cycle of *Paragonimus* Sp. (Trematoda: Troglotremitidae): Causal Agent of Human Paragonimiasis In Colombia. *J Parasitol.* 89 (4): 749–755.

Verano, J.W. y G.P. Lombarda. 1999. Paleopatología en Sudamérica andina. *Bull Instit Fr Et And* 28: 91-121.

Wirth, T., X. Wang, B. Linz, R.P. Novick, J.K. Lum, M. Blaser, G. Morelli, D. Falush y M. Achtman. 2004. Distinguishing human ethnic groups by means of sequences from *Helicobacter pylori*: Lessons from Ladakh. *Proc Natl Acad Sci* 101: 4746-4751.

Wiuf, C. 2001. Recombination in Human Mitochondrial DNA?. *Genetics* 159: 749-756.

White, T.D., P.A. Folkens. 2005. *The Human Bone Manual*. San Diego, USA: Academic Press. 464 páginas.

Whiteman, N.K. y P.G. Parker. 2005. Using parasites to infer host population history: a new rationale for parasite conservation. *Animal Conservation* 8: 171-181.

Su, X.Z., Y. Wu, C.D. Sifri y T.E. Wellems. 1996. Reduced extension temperatures required for PCR amplification of extremely A+T-rich DNA. *Nucleic Acids Research* 24 (8): 1574-1575.