

---

# POLIMORFISMO DE INSERCIONES ALU EN POBLACIONES IBÉRICAS Y NORTE-AFRICANAS: EVIDENCIA DE UNA FUERTE BARRERA GENÉTICA A TRAVÉS DEL ESTRECHO DE GIBRALTAR

COMAS, D., CALAFELL, F., PLAZA, S. y BERTRANPETIT, J.

*Laboratori de Biologia Evolutiva. Departament de Ciències Experimentals i de la Salut. Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida. Universitat Pompeu Fabra*

RESUMEN: Once polimorfismos de presencia/ausencia de inserciones Alu se han analizado para inferir posibles relaciones entre poblaciones de la península Ibérica y poblaciones del noroeste africano. Durante el análisis del locus PV92, se detectó una nueva inserción en tres individuos, dos vascos y un marroquí, resultado de una inserción reciente y un evento de migración puntual a través del estrecho de Gibraltar. Sin embargo, el análisis de distancias genéticas y componentes principales muestran una clara diferenciación de las poblaciones del norte de África y las de la península Ibérica, coincidiendo con la barrera geográfica del Mediterráneo. Comparando con poblaciones sub-saharianas, se observa cierto flujo génico en poblaciones del norte de África, como resultado de un flujo continuo a través del desierto del Sahara que ha creado un gradiente de influencia sub-sahariana en las poblaciones norte-africanas actuales. Por su parte, las muestras ibéricas presentan una gran homogeneidad y su diversidad genética se asemeja a la de otras poblaciones Europeas.

PALABRAS CLAVE: Inserción *Alu*, polimorfismo, flujo génico, estrecho de Gibraltar.

ABSTRACT: An analysis of 11 *Alu* insertion polymorphisms has been performed in several NW African and Iberian populations in order to infer their genetic relationship. During the analysis of the PV92 locus, a non-described variant was detected in three individuals, two Basques and one Moroccan, which could be attributed to a recent insertion and a migration event through the Gibraltar Straits. Nevertheless, genetic distances and principal component analyses show a clear differentiation of NW African and Iberian groups of samples, suggesting a strong genetic barrier matching the geographical Mediterranean Sea barrier. Comparing to some sub-Saharan populations, some degree of gene flow from sub-Saharan Africa can be detected in the present North African samples, as a result of a continuous gene flow across the Sahara desert that has created a south-north cline of sub-Saharan Africa influence in North Africa. Iberian samples show a substantial degree of homogeneity and fall within the cluster of European-based genetic diversity.

KEY WORDS: *Alu* insertion, polymorphism, gene flow, Gibraltar Straits.

## INTRODUCCIÓN

Las poblaciones humanas del norte de África representan un grupo especialmente interesante porque a pesar de estar situadas en el continente africano, su historia y sus condiciones geográficas son totalmente diferentes a las de las poblaciones sub-saharianas. El poblamiento de la región se ha visto condicionado por dos potentes barreras geográficas: el desierto del Sahara al sur y el mar Mediterráneo al norte.

Hasta la actualidad, el estudio de las poblaciones del norte de África ha sido escaso comparado con otras poblaciones humanas. En una recopilación de datos genéticos clásicos (Bosch *et al.*, 1997), el primer componente principal de las frecuencias génicas muestra un patrón este-oeste como resultado de las barreras geográficas impuestas por el Mediterráneo y el Sahara. Algunos análisis de microsátélites autosómicos (Bosch *et al.*, 2000), secuencias de la región de control del mitocondrial (Rando *et al.*, 1998) y haplotipos de marcadores en el cromosoma Y (Bosch *et al.*, 1999; 2001), han demostrado que el flujo génico entre las poblaciones del norte de África y la península Ibérica ha sido muy limitado. Sin embargo otros estudios basados en el sistema HLA (Arnaiz-Villena *et al.*, 1997), sugieren un origen común para las poblaciones de ambas orillas del Mediterráneo occidental, hecho no replicado en posteriores análisis para el sistema HLA en dichas poblaciones (Comas *et al.*, 1998).

Con el fin de completar la información aportada por los datos genéticos en poblaciones humanas del norte de África y compararlos con los datos de la península Ibérica, este estudio se basa en el análisis de polimorfismos de inserciones de elementos *Alu* autosómicos. Las inserciones polimórficas de elementos *Alu* consisten en la presencia o ausencia de estos elementos en una localización específica del genoma. Algunas de estas inserciones son específicas de la línea humana y algunas de ellas son polimórficas en nuestra especie. Éstas presentan múltiples ventajas que las hacen especialmente adecuadas para el estudio de las poblaciones humanas, lo cual permite desarrollar modelos de distribuciones de frecuencias e inferencias sobre evolución humana (Stoneking *et al.*, 1997). Entre estas ventajas cabe destacar el conocimiento del estado ancestral (la ausencia del elemento *Alu*) de estos polimorfismos, la facilidad y rapidez de su detección, el hecho de que estas inserciones son acontecimientos únicos y estables en la historia evolutiva de nuestro genoma, lo cual nos permite asegurar que los alelos detectados son idénticos por descendencia. En este trabajo se han analizado 11 polimorfismos de tipo *Alu* en muestras del norte de África y la península Ibérica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El análisis del presente trabajo se efectuó a un total de 223 individuos de la península Ibérica (67 andaluces, 60 catalanes y 96 vascos) y 453 individuos del

norte de África (47 argelinos, 48 tunecinos, 58 saharauis, 111 marroquíes del norte, 140 del oeste y 49 del sudeste del país). Se analizaron 11 polimorfismos de presencia/ausencia de inserción de elementos *Alu*: A25, B65, ACE, D1, APO, FXIIIB, PV92, TPA25, HS2.43, HS3.23 y HS4.65. El análisis de las inserciones se llevó a cabo mediante la amplificación por PCR de los 11 loci de manera independiente y su posterior detección por electroforesis en gel de agarosa (Comas *et al.*, 2000).

Se calcularon las distancias genéticas  $F_{ST}$  (Reynolds *et al.*, 1983) para cada par de muestras y se representaron en un árbol filogenético de *neighbor-joining* (Saitou y Nei, 1987) cuya topología se midió mediante un test no paramétrico con 1000 iteraciones. También se llevó a cabo un análisis de componentes principales con las frecuencias de las inserciones *Alu* mediante el paquete estadístico SPSS.

## RESULTADOS

Las frecuencias de la inserción del elemento *Alu* de los 11 loci analizados para las 9 muestras estudiadas se representan en la figura 1. Tras aplicar la corrección de Bonferroni a los tests de equilibrio Hardy-Weinberg, únicamente dos comparaciones se apartaron del equilibrio, hecho que se atribuyó a una fluctuación estadística.

En principio los loci analizados son bialélicos, pero al analizar el locus PV92 se detectó en tres individuos (dos vascos y un marroquí del norte) una inserción mayor de lo esperado. Tras secuenciar el ADN se pudo comprobar que la mayor inserción encontrada en estos individuos era el resultado de una segunda inserción de un elemento *Alu* en el elemento *Alu* ya existente en el locus PV92. Algunos nucleótidos de la secuencia de ADN de esta nueva inserción sitúan a este elemento *Alu* dentro de la familia AluY8, una familia cuyos elementos se han insertado recientemente en el genoma, lo que refleja un origen muy reciente de esta nueva inserción *Alu*.

Con el fin de detectar la posible relación entre las muestras analizadas, se calcularon las distancias  $F_{ST}$  entre pares de poblaciones y su representación en un árbol filogenético puede observarse en la figura 2. El árbol separa claramente las poblaciones ibéricas de las del norte de África. Ningún otro nodo presenta un valor de *bootstrap* tan elevado y únicamente aquél que une a la muestra de saharauis y marroquíes del sudeste presenta un valor superior al 85 %. Asimismo se efectuó un análisis de componentes principales, cuya representación de los dos primeros componentes queda reflejada en la figura 2. Los resultados son similares a los obtenidos en la representación del árbol de *neighbor-joining*. De nuevo las poblaciones ibéricas se diferencian en el primer componente principal y las muestras de saharauis y marroquíes del sudeste se caracterizan por valores altos en el segundo componente.

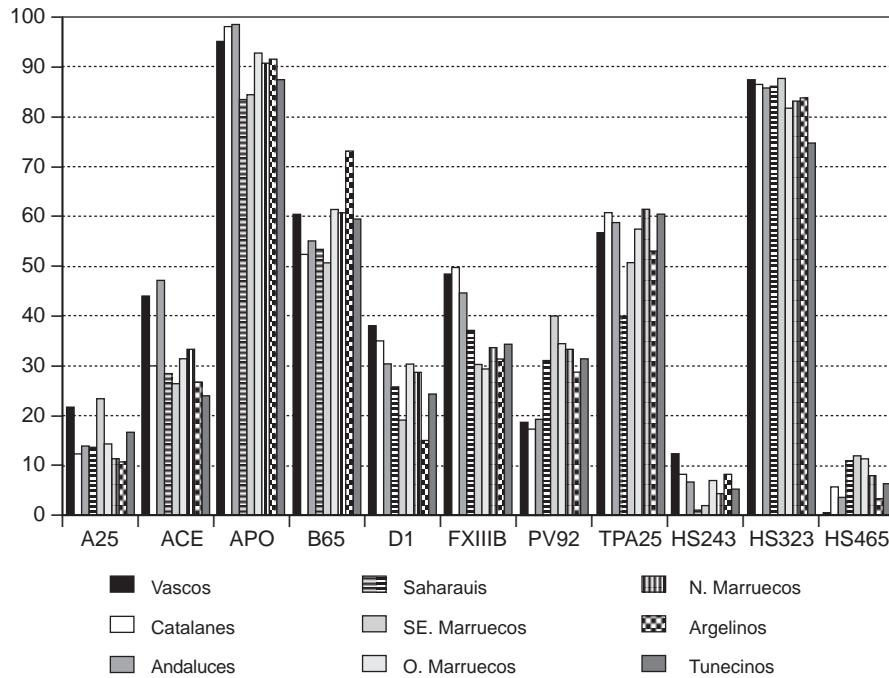


FIGURA 1. Frecuencias de la inserción de elementos *Alu* en 11 loci polimórficos en poblaciones del norte de África y la península Ibérica.

Una vez establecida la relación entre las poblaciones analizadas, se compararon los resultados con las frecuencias de las inserciones de elementos *Alu* en los mismos loci en otras poblaciones europeas (franceses del centro del país, bretones y suizos) y sub-saharianas (bantús, *ɔ*kung y *nguni*) según datos publicados anteriormente (Stoneking *et al.*, 1997). El cálculo de distancias genéticas y su posterior representación (figura 3) muestran que las poblaciones sub-saharianas se separan claramente del resto con un alto valor de *bootstrap*. Las poblaciones ibéricas se agrupan con el resto de poblaciones europeas sin ninguna rama con altos valores de *bootstrap*, lo que sugiere que existe un alto grado de homogeneidad entre ellas. Sin embargo, las muestras del norte de África, a pesar de agruparse en el árbol, presentan heterogeneidad ya que las dos muestras que presentaban características diferenciales en los análisis previos (saharais y marroquíes del sudeste) se sitúan cercanas a las poblaciones sub-saharianas con altos valores de *bootstrap*. Esta afinidad sugiere que ha existido cierto grado de flujo génico entre las poblaciones sub-saharianas y las poblaciones situadas más al sur del norte de África. El análisis de componentes principales utilizando todas estas poblaciones refleja el mismo resultado (figura 3).

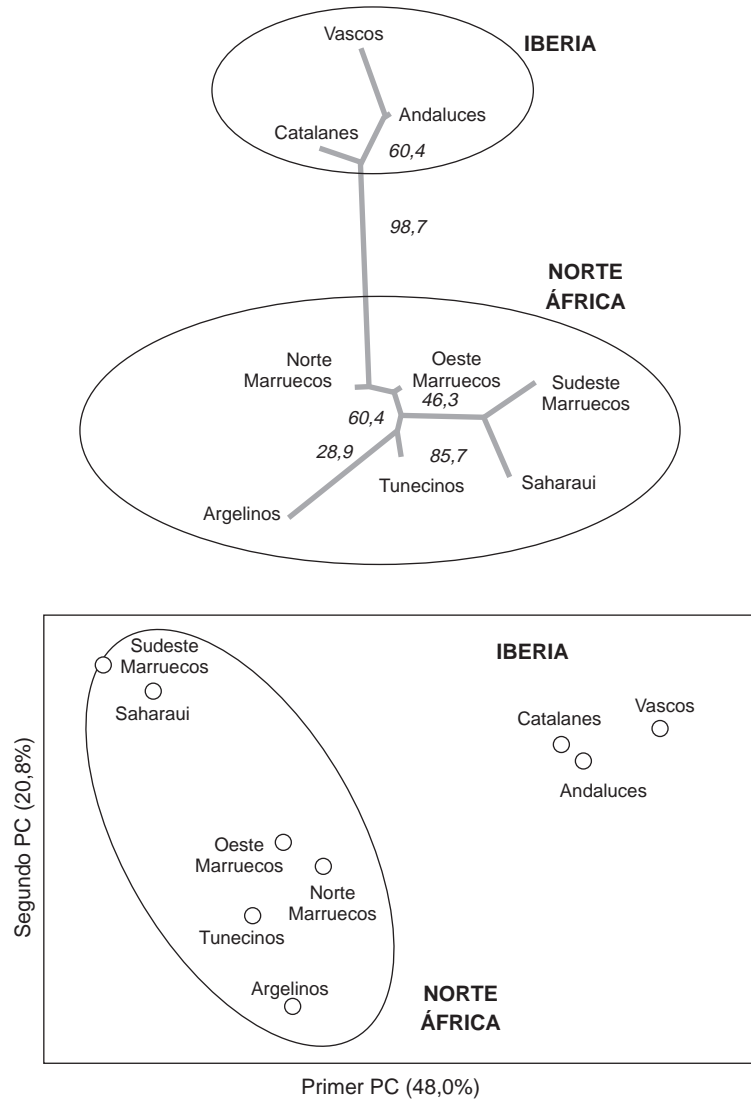


FIGURA 2. Árbol de *neighbor-joining* y representación de los dos primeros componentes principales de nueve poblaciones del norte de África y la península Ibérica para 11 polimorfismos de inserciones *Alu*.

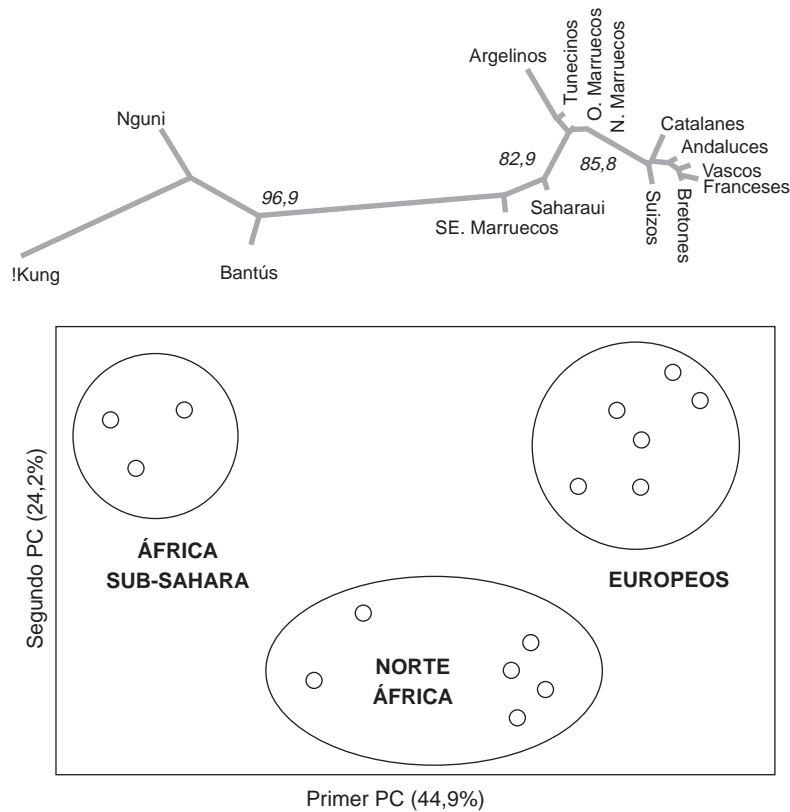


FIGURA 3. Árbol de *neighbor-joining* y representación de los dos primeros componentes principales de diferentes poblaciones africanas y europeas para 11 polimorfismos de inserciones *Alu*.

### DISCUSIÓN

A partir de los datos aportados por 11 polimorfismos autosómicos de elementos *Alu* en poblaciones del norte de África y la península Ibérica podemos llegar a tres conclusiones básicas:

Existe una diferencia genética clara entre el norte de África y la península Ibérica.

A pesar del intercambio cultural que ha habido a ambos lados del estrecho de Gibraltar, el impacto demográfico ha sido limitado. El hecho que se haya detectado una inserción nueva en el locus PV92 muestra que ha habido flujo génico reciente, pero su observación se limita únicamente a tres individuos. Los análisis de distancias genéticas y componentes principales muestran una

clara diferenciación genética de estos dos grupos que coincide con la barrera geográfica impuesta por el Mediterráneo. Podemos explicar esta diferenciación por el hecho de que la ola de avance neolítica se dio en paralelo en las costas norte y sur del Mediterráneo procedente de Oriente Medio, tal como muestran otros datos genéticos (Bosch *et al.*, 1997), representando los grupos estudiados los extremos de la ola de avance neolítica. Además, fenómenos históricos conocidos como el dominio árabe sobre la península o la expulsión judía, han tenido poco impacto demográfico en la formación de las poblaciones actuales a ambos lados del estrecho.

Ha habido flujo génico entre las poblaciones sub-saharianas y el norte de África.

Esto se puede observar en la afinidad genética observada en el presente trabajo entre las poblaciones localizadas más al sur del norte de África (saharai y marroquíes del sudeste). Estos resultados están de acuerdo con resultados previos (Rando *et al.*, 1998, Bosch *et al.*, 1999; 2000; 2001) que sugieren que ha habido un flujo genético continuo a través del Sahara, creando un gradiente sur-norte de influencia sub-sahariana.

La arabización del Maghreb fue un proceso cultural con poco impacto demográfico.

En el presente estudio hay representadas tanto muestras beréberes (montañas del Rif en el norte de Marruecos y grupos de la cordillera del Atlas en el sudeste) como árabes (argelinos, tunecinos y marroquíes del oeste). Las diferencias lingüísticas y culturales de estos dos grupos no se correlacionan con los datos genéticos aportados por las inserciones Alu ni con otros estudios genéticos (Bosch *et al.*, 1997; 1999; 2001).

## BIBLIOGRAFÍA

- Arnaiz-Villena, A., Martínez-Laso, J. y Gómez-Casado, E. *et al.* (1997). Relatedness among Basques, Portuguese, Spaniards and Algerians studied by HLA allelic frequencies and haplotypes. *Immunogenetics* 47, pp. 37-43.
- Bosch, E., Calafell, F. y Pérez-Lezaun, A. *et al.* (1997). Population history of North Africa: evidence from classical genetic markers. *Hum Biol* 69, pp. 295-311.
- Bosch, E., Calafell, F. y Santos, F. R. *et al.* (1999). STR variation is deeply structured by genetic background on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet* 65, pp. 1.623-1.638.
- Bosch, E., Calafell, F. y Pérez-Lezaun, A. *et al.* (2000). Genetic structure of Northwestern Africa revealed by STR analysis. *Eur J Hum Genet* 8, pp. 360-366.
- Bosch, E., Calafell, F. y Comas, D. *et al.* (2001). High-resolution analysis of human Y-chromosome variation shows a sharp discontinuity and limited gene flow between Northwestern Africa and the Iberian peninsula. *Am J Hum Genet* 68, pp. 1.019-1.029.
- Comas, D., Mateu, E. y Calafell, F. *et al.* (1998). HLA class I and class II DNA typing and the origin of Basques. *Tissue Antigens* 51, pp. 30-40.

- Comas, D., Calafell, F. y Benchemsi, N. *et al.* (2000). Alu insertion polymorphisms in NW Africa and the Iberian peninsula: evidence for a strong genetic boundary through the Gibraltar Straits. *Hum Genet* 107, pp. 312-319.
- Rando, J. C., Pinto, F. y González, A. M. *et al.* (1998). Mitochondrial DNA analysis of Northwest African populations reveals genetic exchanges with European, Near-Eastern, and sub-Saharan populations. *Ann Hum Genet* 62, pp. 531-550.
- Reynolds, J., Weir, B. S. y Cockerman, C. C. (1983). Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short term genetic distance. *Genetics* 105, pp. 767-779.
- Saitou, N. y Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4, pp. 406-425.
- Stoneking, M., Fontius, J. J. y Clifford, S. L. *et al.* (1997). Alu insertion polymorphisms and human evolution: evidence for a larger population size in Africa. *Genome Res* 7, pp. 1.061-1.071.