

¿Quién es en realidad el *Homo sapiens* y cómo lo sabemos?

Traducción de Nicole O'Dwyer del artículo de Mason Liang* y Rasmus Nielsen* «Who is *H. sapiens* really, and how do we know?». BMC Biology, 2010, Vol. 9, Num. 20, pp. 1-4.
*Departamento de Biología de Sistemas, Universidad de California, Berkeley, California, EEUU.
El artículo original está disponible en <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/9/20>

¿Es verdad que los humanos modernos descienden directamente de los neandertales y de otras especies arcaicas?

Según dos trabajos publicados recientemente de Green y colaboradores (2010) y de Reich y colaboradores (2010), la respuesta a esta pregunta es sí. Los genomas humanos están compuestos en parte de ADN proveniente de otras especies arcaicas de homínidos que antes no se incluían entre nuestros ancestros, aunque la parte de ADN arcaico en el genoma depende de nuestro origen étnico. Según los análisis de ADN antiguo, Green et al. informan que, en promedio, del 1% al 5% de los genomas de los individuos que no son africanos descienden de un neandertal, y Reich informa que del 4% al 6% de los genomas de los melanesios surgen de una población arcaica de homínidos que se descubrió hace poco y se apodó denisovano. Los denisovanos y los neandertales son las únicas especies arcaicas que se han investigado hasta el día de hoy, pero las investigaciones futuras podrían revelar contribuciones de ADN provenientes de otras especies, tal vez incluso de especies que nunca se han calificado bien morfológicamente.

¿Qué es un homínido arcaico, exactamente?

Los homínidos son los humanos y sus ancestros extintos estrechamente emparentados. Los denisovanos y los neandertales eran homínidos cuya vida se extinguió hace aproximadamente 30.000 años. Los fósiles de los neandertales se encontraron por primera vez en 1856 en el Valle Neander, que da el nombre a la especie. Desde entonces, se han encontrado ejemplares en distintos lugares geográficos que incluyen el Medio Oriente, Asia Central y Europa Occidental y Central. Hasta el momento, los únicos restos de denisovanos que se descubrieron son el hueso de un dedo y dos dientes (Figura 1), que se encontraron en las cuevas de Denisova, en Siberia. Según el análisis genético del hueso del dedo, Reich y colaboradores concluyen que los denisovanos constituyen una población profundamente distinta a la de los otros neandertales. Es probable que el hecho de que los neandertales y los denisovanos constituyen especies diferentes sea en esencia una cuestión semántica y, de todas formas, no se puede responder si no se obtienen más muestras de denisovanos.



Figura 1: Vista oclusal (a) y mesial (b) de un molar de Denisova. Fuente: Reich y colaboradores, 2010.

¿Cómo se encuadra esto en las teorías actuales de los orígenes de la humanidad?

La pregunta sobre los orígenes de la humanidad intriga a los científicos desde que Darwin propuso la teoría de la evolución. Desde el punto de vista histórico, gran parte del debate se ha enfocado en dos hipótesis paralelas: la teoría del monogenismo (Figura 2a) y la del poligenismo (Figura 2b). La hipótesis monogenista propone que los humanos con anatomía moderna inicialmente evolucionaron en África hace 150.000 a 200.000 años. Luego migraron hace 60.000 a 100.000 años, desplazaron a otros homínidos arcaicos y dieron origen a las poblaciones actuales de humanos. La teoría sobre el poligenismo sugiere que los homínidos arcaicos se fueron de África mucho antes y que luego evolucionaron a partir de la población de Eurasia, con algún grado de reproducción cruzada. Por lo tanto el

flujo de genes entre individuos de diferentes poblaciones es lo que provocó el grado de diferenciación genética entre las poblaciones que observamos en la actualidad. El primer informe de 1987 con datos de ADN mitocondrial (mc) y los análisis posteriores sobre ADN autosómico parecían confirmar la hipótesis monogenista.

Sin embargo, incluso antes de la publicación sobre el genoma del neandertal, los análisis que realizaron Jeffrey Wall *et al.* sobre el ADN de los humanos modernos de diversos lugares geográficos sugerían que, contrario al consenso previo, los humanos anatómicamente modernos evolucionaron en África hace poco tiempo y se mezclaron con los homínidos arcaicos endémicos (neandertales, denisovanos y hasta incluso *Homo erectus*) a medida que se extendieron por todo el mundo (Figura 2c); y que la mezcla de ancestros puede ser mucho más común de lo que se pensaba.

Wall y colaboradores, basaron sus análisis en el patrón de la longitud de los haplotipos. Luego de controlar otros factores de confusión, como la historia demográfica y la variación de la velocidad de recombinación, concluyeron que las longitudes observadas de estas regiones sólo podían justificarse con la mezcla arcaica de alrededor del 5%. La evidencia de mezcla con ADN nuclear de los neandertales y de los denisovanos da crédito a esta afirmación.

¿No es realmente difícil obtener ADN auténtico que no esté dañado de individuos que han estado muertos por más de 30.000 años?

Sí. Fue necesario encontrar muestras que hayan estado enterradas en condiciones secas y de temperaturas bajas, frente a las cuales el ADN se degrada de manera relativamente lenta. Aún así, en las muestras de neandertales la mayoría de los fragmentos de ADN eran muy cortos, y alrededor del 95% al 99% del ADN de las muestras pertenecía a bacterias. Para reducir la cantidad de secuenciación necesaria, se aumentó la proporción relativa de ADN del homínido al tratar el fragmento con enzimas de restricción seleccionadas para cortar preferentemente el

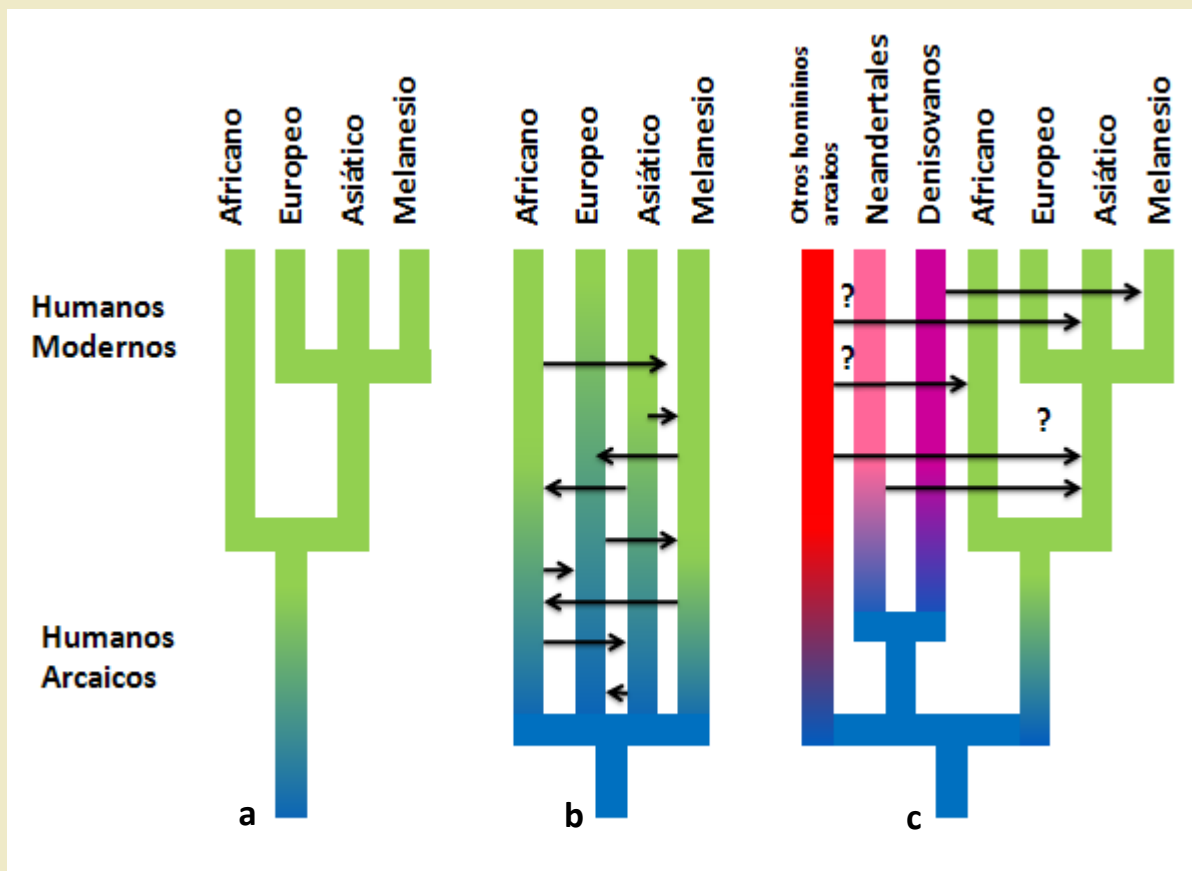


Figura 2: Orígenes de la humanidad Cada panel muestra una hipótesis de la historia evolutiva de los humanos. Las barras con color muestran las relaciones filogenéticas entre las especies; cada color representa una especie y el azul representa las especies de homínidos ancestrales. Las flechas representan el flujo genético o la mezcla, y los signos de interrogación indican la posible mezcla de homínidos que aun no se han descubierto. (a) La hipótesis monogenista; (b) la hipótesis poligenista; (c) una modificación de la hipótesis monogenista que incluye la mezcla arcaica descubierta en trabajos recientes.

ADN de las bacterias. Así se aumentó la proporción relativa de ADN de neandertal, que superó el 10%. El fragmento enriquecido se analizó con máquinas para la secuenciación de generaciones nuevas; se produjo una secuencia preliminar con una cobertura de alrededor de 1.3X (es decir, en promedio se hicieron 1.3 secuencias por cada par de base del genoma). La secuenciación de la siguiente generación es aleatoria, por lo tanto ciertas partes del genoma no se secuenciaron en lo absoluto y otras se secuenciaron muchas veces más.

El material genético del individuo denisovano se extrajo de un hueso del dedo. El clima más frío de Siberia permitió que el ADN se degrade menos. Sin embargo, el pequeño volumen que tenía el hueso del dedo sólo aportó suficiente ADN para secuenciar el genoma del denisovano con una cobertura de 1.9X.

Debemos tener mucho ADN en común con los homínidos arcaicos porque compartimos ancestros. ¿Cómo podemos deducir si hubo reproducción cruzada?

Si tenemos dos poblaciones humanas, una de las cuales tuvo más mezcla arcaica que la otra, esperamos que la que tiene mayor mezcla sea genéticamente más similar al homínido arcaico que la otra. Esta intuición se formaliza a través de la prueba ABBA-BABA. En esta prueba estadística, se compara ADN de los mismos lugares en una secuencia de chimpancé, una secuencia de homínido arcaico, y secuencias de un par de poblaciones humanas modernas, como por ejemplo los han y los yoruba o los japoneses y los franceses (llamados H1 y H2). Sólo se toman en cuenta los lugares con dos alelos, el A y el B. Se supone que el chimpancé cuenta con el A, que es el alelo ancestral. Luego se calculan dos números: nABBA que es el número de lugares donde el chimpancé y uno de los pares de humanos modernos (H2) presentan el alelo A y donde el homínido arcaico y el otro humano moderno (H1) presentan el alelo B (ABBA); y nBABA que es el número de lugares donde el chimpancé y el H1 cuentan con el alelo A y el homínido arcaico y el H2 cuentan con el alelo B (BABA). Por último, se suman el nABBA y nBABA de todos los pares de muestras de H1/H2 pertenecientes a las dos poblaciones humanas que se están analizando. Si no hubo mezcla arcaica, la diferencia entre las sumas deberá ser 0. Si la diferencia se aleja mucho de 0, se rechaza la hipótesis nula, que asegura que no hubo mezcla. Con la ayuda de modelos genéticos de la población, también se puede calcular la fracción de mezcla según cuán grande sea la diferencia. Entonces la prueba ABBA-BABA puede utilizarse sobre cada par de poblaciones humanas para diferenciar el nivel de mezcla.

Los resultados de la prueba ABBA-BABA demostraron que las poblaciones humanas que no son africanas están más emparentadas con los neandertales que las poblaciones africanas. Cuando trabajaron con el genoma de los denisovanos, Reich *et al.* encontraron evidencias de mezcla sólo en los melanesios.

«...parece que una simple hipótesis monogenista sin mezcla no brinda un panorama completo de los orígenes del humano.»

Parece un estudio bastante delicado. ¿Podría ser que los resultados presenten contaminación humana?

Probablemente no. La contaminación es un problema serio en cualquier proyecto de secuenciación. Un trabajo reciente de Longo *et al.* informa que hay una contaminación humana importante en las bases de datos de genomas que no pertenecen a primates y que los análisis previos de material genético de neandertales

también estuvieron plagados de contaminación de ADN humano.

Frente a esta experiencia, los investigadores tomaron varias precauciones para que el estudio no se contamine. La preparación de la muestra inicial y la extracción de ADN se hicieron en una habitación limpia, con la ayuda de varios procedimientos que permitieron reducir las posibilidades de contaminación con ADN de humanos modernos. Como paso adicional al preparar la muestra, se ligaron cebadores especiales en ambos extremos de cada fragmento para poder identificarlos. Durante la secuenciación, sólo se utilizaron las lecturas provenientes de las muestras que tenían la etiqueta de la habitación limpia para ensamblar el genoma preliminar; así se minimizó el efecto de contaminación posterior al paso por la habitación limpia.

La eficacia de estos métodos se validó con la ayuda de tres procedimientos diferentes: observando el ADN mitocondrial; observando las secuencias del cromosoma «Y»; y utilizando análisis estadísticos de autosomas. El ADN mitocondrial se secuencia con mayor facilidad porque se presenta en una concentración mayor a la del ADN nuclear. Como resultado, la secuencia de ADN mitocondrial de los neandertales pudo determinarse con mucha exactitud, y se han identificado varias diferencias fijas entre los humanos y los neandertales. Las diferencias pueden utilizarse para calcular la proporción de ADN mitocondrial humano respecto del ADN mitocondrial del neandertal en la muestra. De la misma manera, como todas las muestras eran de mujeres, la cantidad de ADN del cromosoma Y puede utilizarse para calcular el nivel de contaminación proveniente de hombres. Por último, los investigadores utilizaron la información sobre la frecuencia de alelos y la heterocigosidad humana para calcular de manera directa la contaminación en el ADN autosómico. Los tres métodos dieron como resultado una contaminación humana igual o menor al 1%.

Esto concuerda con los resultados de la prueba ciega en la cual Green y colaboradores estudiaron la variación genética del humano actual sin conocer la secuencia de los neandertales; pudieron encontrar regiones del genoma humano que parecían mezcladas. Al comparar sus predicciones con la información sobre los neandertales, se vio que estas posibles regiones eran iguales a la secuencia de los neandertales; la frecuencia era tan alta que no podía explicarse con ningún nivel de contaminación.

¿Qué sucede con el ADN dañado?

El principal problema a la hora de trabajar con ADN antiguo es la escasez de material genético. No es que los genomas de los neandertales y de los denisovanos no pueden secuenciarse con mayor cobertura por la falta de dinero o de tiempo; sucede por la falta de fragmentos de ADN. Los tres huesos de la cueva de Vindija y aquel de las cuevas de Denisova se han vaciado completamente para producir los genomas para el informe.

La secuenciación de ADN antiguo generalmente muestra un índice de error mucho mayor si se compara con la del ADN moderno. Los errores en el genoma del informe pueden haber surgido por la degradación medioambiental del ADN o por un error en la secuenciación. En las muestras de ADN antiguo, la desaminación de residuos de citosina hace que la C tenga las mismas propiedades químicas que la T y que la G tenga las mismas propiedades químicas que la A. Como resultado, el genoma preliminar del neandertal presenta una cantidad extraordinariamente grande de sustituciones de C!T y de G!A, que en su gran mayoría son errores. Al secuenciar las muestras de los denisovanos, se revirtió la desaminación de manera química y se permitió que los residuos de C y de G se secuencien correctamente. Todo esto y el clima más seco y frío de la cueva de Denisova permitieron que las muestras de ADN presenten un daño alrededor de 10 veces menor.

Los problemas también pueden surgir porque el índice de error en la secuenciación de generaciones nuevas es sólo un poco menor que la divergencia entre humanos y neandertales. Sin embargo, se espera que este problema desaparezca a medida que la tecnología para secuenciar nuevas generaciones se vuelva más precisa y el descubrimiento de nuevas muestras permita una cobertura mayor.

Suena grave... ¿Qué nos confirma la interpretación si el índice de error y la divergencia están tan cercanos?

El análisis estadístico de los genomas de los neandertales y de los denisovanos se diseñó teniendo en cuenta las limitaciones de la información. Un trabajo de Durand (en prensa) sostiene que la prueba ABBA-BABBA sobre la mezcla no distingue entre factores de confusión, como por ejemplo, la historia demográfica entre humanos o neandertales, el error de secuenciación o el daño en el ADN, siempre que las muestras de H1 y H2 se procesen de la misma manera. Sin embargo, una preocupación es la posibilidad de una estructura compartida de error provocada por los métodos de secuenciación de ADN. La tecnología actual para la secuenciación es muy imprevisible, y la frecuencia y el tipo de errores de secuenciación en la información final dependen de muchos factores, como por ejemplo, la preparación de la muestra, el tipo de máquina de secuenciación, la contaminación por los reactivos o las condiciones locales, y la cobertura de secuenciación. Si las estructuras de error del ADN arcaico y una de las muestras de ADN de un humano moderno son similares entre sí por una o más razones, la prueba ABBA-BABA podría dar como resultado que hubo mezcla cuando en realidad no la hubo. Incluso una proporción muy pequeña de errores compartidos podría tener gran efecto en la estadística de la ABBA-BABA. Por ejemplo, pequeños efectos que generalmente ignoramos (como por ejemplo, la contaminación compartida de reactivos entre las muestras) podría generar evidencia artificial de mezcla. Green y Reich hicieron grandes esfuerzos para controlar estos efectos y parecen haber tenido éxito. Sin embargo, la cuestión de los errores en la información de secuenciación de la siguiente generación (en particular con el ADN antiguo) y las consecuencias que provocan en las conclusiones actuales y futuras sobre los niveles bajos de mezcla permanece como una cuestión crítica que probablemente sea el objetivo de gran parte de la investigación futura.

Si asumimos que podemos estar seguros de las conclusiones de estos estudios, ¿qué parte de nuestros genomas proviene de otros homínidos?

Estos dos trabajos sólo investigaban la posibilidad de mezcla de neandertales y denisovanos en los humanos. Es posible que otros homínidos arcaicos, tal vez algunos que aún no se han descubierto, también hayan contribuido al genoma humano. De hecho, Plagnol y Wall informan que existe evidencia de una importante mezcla en las poblaciones africanas también, aunque aún no se han propuesto especies candidatas.

Según la información y los análisis presentados por Green y Reich, parece que una simple hipótesis monogenista sin mezcla no brinda un panorama completo de los orígenes del humano. A medida que la tecnología de secuenciación mejora y que surjan nuevos descubrimientos arqueológicos deberíamos comprender con mayor detalle la ascendencia compuesta del genoma humano.

Recomendaciones Bibliográficas:

Green, R.E. y otros. 2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science*, Vol 328, pp. 710-722. [fecha de consulta: julio 2011]. Disponible en: http://http://www.eva.mpg.de/neandertal/press/press_kit.html

Plagnol, V. y Wall, J. 2006. Possible ancestral structure in human populations. *PLoS Genet*. Vol. 2, pp. 972-979.

Reich, D. y otros. 2010. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature*, Vol. 468, pp. 1053-1060. [fecha de consulta: julio 2011].

Disponible en: http://genetics.med.harvard.edu/reich/Reich_Lab/Welcome_files/2010_Nature_Denisova_Genome.pdf

Wall, J. y otros. 2006. Archaic admixture in the human genome. *Curr Opin Genet Dev*. Vol. 16, pp. 606-610.