

Kelly Nunes

Populações Ameríndias da América do Sul:  
Estudo *multi-locus* e inferência histórico-  
demográfica e seletiva

Native population in South American: a multi-  
locus study of demographic and selective  
history

São Paulo

2011

Kelly Nunes

Populações Ameríndias da América do Sul:  
Estudo *multi-locus* e inferência histórico-  
demográfica e seletiva

Native population in South American: a multi-  
locus study of demographic and selective  
history

Tese apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade de São  
Paulo, para a obtenção de Título de  
Doutor em Ciências, na Área de  
Genética.

Orientador: Diogo Meyer

São Paulo

2011

## Ficha Catalográfica

Nunes, Kelly

Populações Ameríndias da América do Sul: Estudo *multi-locus* e inferência histórico-demográfica e seletiva

203 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

1. Populações Ameríndias 2. História Demográfica 3. Seleção Natural  
Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

Cópia Corrigida a tese original encontra-se disponível no Instituto de Biociências da USP.

### Comissão Julgadora:

---

Profa. Dra. Maria Luiza Petzl-Erler

---

Profa. Dra. Tatiana Teixeira

---

Prof. Dr. Nelson Fagundes

---

Prof. Dr. Gabriel Marroig

---

Prof. Dr. Diogo Meyer

Orientador

## Resumo

---

O presente estudo foca em dois temas principais: a) história demográfica das populações nativas do continente americano e b) como a história demográfica e seletiva moldam a diversidade e diferenciação dos genes *HLA*, nessas populações.

As populações nativas americanas apresentam uma história evolutiva peculiar, com padrões demográficos distintos das outras populações do mundo. Estudos anteriores sugerem que elas possuem: a) baixa diversidade genética e alta diversidade inter-populacional em relação às demais populações do mundo; b) um gradiente de diminuição de diversidade no sentido norte-sul do continente americano c) altos níveis de variabilidade intra-populacional, e baixos níveis de variabilidade genética inter-populacional nas populações que vivem na região oeste da América do Sul, em comparação às populações do leste. Contudo, esses achados são baseados em estudos que apresentam uma deficiência amostral para populações ameríndias das terras do baixo rio Amazonas. No presente estudo nós suprimos essa deficiência ao analisar 11 populações das terras baixas do rio Amazonas e 3 populações do centro-sul do Brasil. Constatamos que: a) as populações do leste e oeste da América do Sul são altamente diferenciadas, corroborando estudos anteriores; b) a diferenciação entre as populações do leste da América do Sul é maior que entre as populações do oeste (região andina e noroeste da América do Sul) em acordo com estudos anteriores; c) a maior diferenciação entre as populações do leste da América do Sul é causada por populações específicas (Ache, Arara do Iriri, Araweté, Surui e Ticuna Tarapaca), que apresentam histórias evolutivas peculiares; d) análises excluindo essas populações com alto grau de diferenciação mostram que para o conjunto restante de populações o nível de diferenciação é similar dentro das regiões leste com o encontrado para a diferenciação na região noroeste do continente sul americano corroborando os estudos morfológicos; e) o leste da América do Sul forma dois grupos populacionais distintos (sudoeste da Amazônia e leste da Amazônia+centro –sul do leste da América do Sul) e com diferente ancestralidade genética (o oeste da Amazônia com maior componente genético do Noroeste da América do Sul e o leste da

Amazônia+centro-sul com maior componente Andino), em acordo com o modelo de rotas migratórias proposto por SCHMITZ, 1983.

Os genes *HLA*, localizados na região do MHC, estão envolvidos na resposta imune adaptativa e tem como função apresentar peptídeos na superfície celular. Diversos estudos mostram que os genes *HLA* estão evoluindo sob regime de seleção balanceadora. O perfil da variabilidade genética dos genes *HLA* nas populações nativas da América (com grande número de alelos e alguns com frequência muito distinta de outras regiões do mundo) diferem dos demais genes até então analisados nessas populações. No presente estudo investigamos as contribuições da história demográfica e seletiva para moldar a variabilidade genética nas regiões adjacentes aos genes *HLA* em populações nativo-americanas. Para tanto, comparamos o perfil de 16 microssatélites na região do MHC com 61 microssatélites espalhados pelo genoma (controle demográfico) em 28 populações nativas da América, uma população africana (Ovimbundu) e uma europeia (Portugueses). Verificamos que: a) os microssatélites da região do MHC apresentam alto nível de desequilíbrio de ligação entre si corroborando estudos anteriores; b) apresentam maior diferenciação inter-populacional do que os microssatélites espalhados pelo genoma. Este sinal é oposto ao que esperávamos verificar para genes evoluindo sob seleção balanceadora. Estudos anteriores mostram que mesmo populações que são compostas por conjuntos de alelos *HLA* distintos apresentam baixos níveis de diferenciação. Sugerimos que a seleção poderia estar favorecendo alelo (ou conjunto de alelos) específico em diferentes regiões geográficas e que como os índices de diferenciação populacional como o  $F_{ST}$  estimam a variância das frequências alélicas, ele seria “cego” para a diferença na composição alélica das populações.

Como estudo de caso olhamos o gene *HLA-B*, que nas populações nativas da América, apresenta um conjunto de alelos endêmicos, ou que ocorrem em alta frequência no continente americano e em baixa frequência fora dele. Com intuito de verificar se há sinais de seleção nas regiões adjacentes a este gene, analisamos seis microssatélites flanqueadores a ele em 28 populações nativas. Estimamos a heterozigose dos microssatélites associada a um determinado alelo de *HLA-B* bem com o grau de associação dos alelos de microssatélites com as linhagens e os alelos de *HLA-B*. As análises mostram que: a) de modo geral, a heterozigose associada aos

alelos endêmicos é semelhante à observada em alelos cosmopolitas (com exceção dos alelos *HLA-B\*3909* e *B\*3543*); b) a diferenciação observada a partir dos microssatélites adjacentes é maior entre as nas linhagens de *HLA-B* do que dentro das linhagens c) haplótipos específicos de microssatélites apresentam forte associação com os as linhagens de *HLA-B*. Esses resultados são surpreendentes visto que as linhagens de *HLA-B* existem mesmo antes da especiação humana. Sugerimos que a baixa heterozigose associada as linhagens pode estar relacionada a dois fatores: a) o gargalo populacional ocorrido durante a entrada do homem moderno no continente americano; b) seleção atuando no favorecimento não apenas os alelos mais também as linhagens de *HLA-B*.

Desta forma concluímos que apesar da intensa história demográfica, as populações nativas americanas apresentam sinais da atuação de forças seletivas na região do MHC.

# Abstract

---

The present study addresses two main themes: a) demographic history of the Native American populations and b) how the demographic and selective history shapes the diversity and differentiation of the *HLA* genes on those populations.

The Native American populations present a peculiar evolutive history, with demographic pattern that are distinct from other populations in the world. Previous studies suggest that they have: a) low genetic diversity and high inter-populational diversity compared to the other world populations; b) a diversity decreasing gradient on the north-south direction of the American continent; c) high levels of genetic variability within populations and low levels of genetic variability between populations that live in the western South American region, compared with the eastern ones. However, these findings are based on studies that present a sampling deficiency for the Amerindian populations located on the Amazon River lowlands. On the present study we suppress this deficiency by analyzing 11 populations of the Amazon River lowlands and 3 populations of the Brazilian South-Center. We have observed that: a) the populations of the East and West of the South America are highly differentiated, in accordance with previous studies; b) the differentiation among the Eastern South America is greater than among the Western ones (Andean region and Northwestern South America) agreeing with previous studies; c) the larger differentiation among the Eastern South American populations is caused by specific groups (Ache, Arara do Iriiri, Araweté, Surui and Ticuna Tarapaca), which present peculiar evolutive histories; d) analysis that exclude these high differentiation level populations shows that for the remaining group, the differentiation level of the Eastern regions is similar to the differentiation levels found on the Western regions of the South American continent, corroborating the morphological studies; e) the east of the South America is divided in two distinct populational groups (Amazon Southwest and the Amazon East/South Central of South America) and with different genetic ancestry (the Amazon West with greater genetic component from the Northwestern South America and the Amazon

East/South Central with greater Andean genetic component), agreeing with the migration routes model proposed by SCHMITZ, 1983.

The *HLA* genes, located on the MHC region, are involved on the adaptative immune response and have the function of presenting peptides on the cellular surface. Various studies show that the *HLA* genes are evolving under balancing selection. The genetic variability profile of the *HLA* genes on the Native American populations (with great number of alleles and some with a frequency very distinct from other world regions) differs from the other genes so far analyzed in these populations. On the present study we investigate the contributions of the demographic history on shaping the genetic variability of the regions adjacent to the *HLA* genes on Native-American populations. To accomplish that, we compared the profile of 16 microsatellites of the MHC region with 61 microsatellites spread through the genome (demographic control) in 28 Native American populations, 1 African population (Ovimbundu) and 1 European population (Portuguese). We observed that: a) the microsatellites of the MHC region present a high linkage disequilibrium among themselves, corroborating previous studies; b) present higher inter-population differentiation than the microsatellites spread through the genome. This signal is opposed to the ones we expected from genes that are evolving under balancing selection. Previous studies show that even populations composed by groups of distinct *HLA* alleles present low levels of differentiation. We suggest that the selection could be favoring specific allele (or allele group) in different geographic regions, and since the population differentiation indexes such as  $F_{ST}$  estimate the variance of the allelic frequencies, it would be “blind” to the difference on the allelic composition of the populations.

As a case study, we investigate the *HLA-B* gene, which, in the American native populations, present a group composed by endemic allele and alleles that occur in high frequency on the American continent and in low frequency outside of it. With the intention of verifying if there are signs of selection on the regions adjacent to this gene, we have analyzed 6 microsatellites flanking to the *HLA-B* in 28 native populations. We estimated the heterozygosity of the microsatellites associated to a determined *HLA-B* allele as well as the degree of association of the microsatellite alleles with the *HLA-B* lineage and alleles. The analysis showed that: a) in general, the



heterozygosity associated to the endemic alleles is similar to the one observed in cosmopolitan alleles (with exception of the *HLA-B\*3909* and *B\*3543*); b) the differentiation observed from the adjacent microsatellites is greater between the *HLA-B* lineages than inside the lineages; c) specific microsatellite haplotypes present strong association with the *HLA-B* lineages. These results are surprising since the *HLA-B* lineages have existed even before the human speciation. We suggest that the low heterozygosity associated to the lineages could be related to two factors: a) the populational bottleneck occurred during the modern human entrance on the American continent; b) selection acting on the favoring, not only of the alleles, but also on the *HLA-B* lineages.

In conclusion, despite the intense demographic history, the Native American populations present signs of selective forces acting on the MHC region.

## Introdução Geral

---

As populações humanas apresentam uma ampla diversidade cultural, linguística e genética. A descrição e compreensão desse padrão é algo que instiga a nossa curiosidade desde os primórdios da história. No último século, várias disciplinas como arqueologia, antropologia, linguística e genética têm se esforçado para compreender o nosso passado, reconstruir a nossa história e identificar quais fatores são responsáveis pela variabilidade e diferenciação entre as populações humanas.

A diversidade e diferenciação genética nas populações são moldadas por fatores genéticos e eventos demográficos (mutação, recombinação, deriva, seleção natural, migração, expansões e gargalos populacionais) (BALARESQUE *et al.*, 2007). Esses processos deixam marcas características no genoma humano, que são transmitidas às gerações seguintes e podem ser detectadas através de alterações que provocam nas frequências alélicas. Portanto, para reconstruir a história, é necessário partir de modelos pré-estabelecidos para realizar inferências sobre quais processos moldaram a diversidade genética das populações sob estudo (JOBLING *et al.*, 2004). Os resultados de estudos genéticos são particularmente valiosos se interpretados à luz de esforços interdisciplinares, unindo a Genética de Populações e a Evolução Molecular com Antropologia, Arqueologia, Imunologia, entre outras.

Com base em diferentes estudos, hoje é reconhecida a existência de um gradiente de perda de diversidade genética nas populações humanas, à medida que elas se distanciam do Leste da África (INGMAN *et al.*, 2000; UNDERHILL *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 2007). Esses dados corroboram a ideia de que o homem moderno tem sua origem no continente africano e que sucessivas migrações sequenciais envolvendo apenas um subconjunto da população (e, portanto da variabilidade genética) marcaram o povoamento das diferentes regiões do mundo (CAVALLI-SFORZA e FELDMAN, 2003; RAMACHANDRAN *et al.*, 2005). Esse processo primeiramente leva à perda de diversidade genética inicial e ao longo do tempo cada população ficará sujeita aos eventos de deriva genética, mutação, recombinação e seleção natural que podem resultar na diferenciação e estruturação populacional.

A compreensão de como está distribuída a variação genética, e quais os níveis de diferenciação entre populações, é fundamental para entender a história dos movimentos das populações humanas, e também a forma como esses eventos impactam as suas características genéticas.

Diversos estudos com diferentes tipos de marcadores indicam que a maior parcela da variação genética (85 – 94%) é encontrada entre indivíduos da mesma população e não entre populações (2,5 – 7%) ou continentes (8 – 3,5%) (LEWONTIN, 1974; BARBUJANI *et al.*, 1997; ROSENBERG *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2007). Essa pequena proporção de diferenças genéticas entre as populações é reflexo tanto de eventos demográficos (migrações sequenciais, gargalos, expansões populacionais) como seletivos (adaptação a novos habitats). É reconhecido que a saída do homem moderno da África implica na conquista de novos habitats, o que acarreta em desafios como adaptação a mudanças climáticas (ex. diferença de radiação UV – mudança de pigmentação da pele (JABLONSKI, 2004)), alimentares (ex. domesticação de animais e consumo de leite na vida adulta – persistência da expressão do gene da lactase (TISHKOFF *et al.*, 2007)) e de patógenos, os quais podem ter exercido pressão seletiva. As consequências funcionais dessas variantes genéticas que facilitaram a sobrevivência das populações ancestrais é uma pequena, mas importante, contribuição para a diferença entre os grupos populacionais.

No presente estudo nós buscamos explorar a história evolutiva (demográfica e seletiva) das populações com menores índices de diversidade e maior diferenciação populacional no mundo – as populações Nativas Americanas, e em especial as populações Sul-Americanas. Essas populações apresentam uma história evolutiva peculiar: foram fundadas por um pequeno grupo de indivíduos, expandiram e povoaram o continente com maior gradiente latitudinal (portanto com ampla variação climática, de biomas e patógenos endêmicos), ficaram isoladas das demais populações do mundo por cerca de 10 mil anos e à cerca de 500 anos tiveram um encontro catastrófico com os europeus, o que dizimou cerca de 90% da população nativa. Portanto, elas apresentam uma das histórias mais complexas entre as populações humanas e explorá-la é um desafio.

Nosso interesse inclui dois temas gerais: (a) estudar a história demográfica e de movimentos populacionais que resultaram na ocupação das Américas, (b) usar

essa informação para compreender de que forma a seleção natural e os processos demográficos moldaram as características do sistema imune, em especial a região do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) nas populações nativas. Ambas são questões a respeito das quais há vários aspectos que permanecem controversos.

A presente tese está estruturada da seguinte maneira:

- 1) Revisão das principais características da história evolutiva das populações nativas da América e a contextualização da problemática e justificativa do presente estudo;
- 2) Capítulo 1: estudo da história demográfica das populações nativas da América do Sul;
- 3) Capítulo 2: estudo da história seletiva sobre a região do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) em populações nativas da América do Sul;
- 4) Discussão Geral, Conclusões Gerais e Considerações Finais.

## **Contextualização**

### **O povoamento da América: implicações demográficas**

A história do povoamento do continente americano é intrigante. Apesar de diversas áreas do conhecimento se aventurarem nesses estudos, muitas vezes os achados levam a interpretações controversas e, portanto há muito mais questionamentos do que respostas consensuais a respeito desse processo. Desta maneira, questões primordiais ainda são amplamente discutidas como: a) de onde vieram os primeiros nativos americanos? b) quando eles chegaram? c) em quantas ondas migratórias? d) quais rotas migratórias foram utilizadas ao longo do continente? (revisões em: SALZANO, 2002; 2007; SCHURR e SHERRY, 2004).

Nas próximas seções faremos uma breve síntese desse processo sob o ponto de vista de evidências não genéticas e genéticas.

### **O povoamento da América: evidências não genéticas**

Atualmente, o único consenso a respeito do povoamento das Américas é que ele ocorreu via Estreito de Bering. Apesar do atual isolamento geográfico, dados geológicos e paleo-climáticos evidenciam que, durante a última era glacial, a América do Norte estava unida à Ásia através de uma ponte natural, formada na região do Estreito de Bering. Essa ponte provavelmente serviu de passagem para os primeiros humanos modernos migrarem para as Américas (ROGERS *et al.*, 1995; FIEDEL, 2000).

Os primeiros registros arqueológicos irrefutáveis da presença humana no continente americano consistem de ferramentas bi-faciais de pedras, ossos e marfim. Um dos primeiros sítios descobertos, compostos por esse conjunto de ferramentas, foi encontrado em uma localidade próxima a cidade de Clovis no Novo México (EUA) e datada entre 13.250 a 12.800 anos A.P. (Antes do Presente – sendo o presente considerado o ano de 1950) (revisão em FIEDEL, 2000; WALTERS e STAFFORD, 2007). O descobrimento de sítios arqueológicos como o de Monte Verde no Chile, com 14.220 a 13.980 anos A.P., geraram grande debate após a constatação de que estes sítios na América do Sul são mais antigos porém contemporâneos com os da América do Norte (DILLEHAY, 1997; DILLEHAY *et al.*, 2008). Apesar das revisões e reavaliações dessas datações, não houve grandes alterações neste cenário, confirmando que os sítios arqueológicos da América do Norte e do Sul

apresentam datações contemporâneas, o que indica que o povoamento das Américas ocorreu de modo rápido (WALTERS e STAFFORD, 2007; DILLEHAY *et al.*, 2008).

A ideia de povoamento que predominou por muitos anos foi a de que os primeiros habitantes do Novo Mundo atravessaram a ponte natural na região do Estreito de Bering e no leste do atual estado do Alasca e depararam-se com duas geleiras: Cordelerana (oeste) e Laurentidea (leste), que momentaneamente os impediu de adentrarem no continente. Com o aquecimento global ocorrido no final do Pleistoceno (11.500 – 12.300 anos A.P.), essas geleiras teriam cedido de tal forma que um corredor livre de gelo se abriu entre elas (Corredor de Alberta). Esse corredor possuía em torno de 1.200 km de extensão e serviu de passagem entre o Alasca e as demais regiões dos Estados Unidos (FIEDEL, 2000).

Devido as datações arqueológicas serem mais antigas que a data sugerida para a abertura do corredor de Alberta, alguns pesquisadores questionaram se o corredor já estaria disponível para a passagem humana nesta época (15.000-13.000 A.P.). Em 1979, FLADMARK sugeriu que a costa do Pacífico poderia ter sido uma rota alternativa utilizada pelos imigrantes. Essa teoria tem ganhado força nos últimos anos, pois os dados geológicos evidenciam que a deglaciação das costas noroeste e norte da América ocorreu entre 16.800 – 14.850 anos A.P.. Dessa maneira, a ocupação humana na costa oeste do continente americano durante o final da última glaciação era possível e o uso de pequenas embarcações poderia ter acelerado o processo de povoamento (revisado em FIEDEL, 2000; DILLEHAY *et al.*, 2008).

Endossando essa ideia, há registros paleoparasitológicos de helmintos (*Necator sp.*, *Ancylostoma duodenale* e *Tichuris trichiura*) encontrados em múmias e coprólitos na América do Norte e do Sul. Esses parasitas apresentam um ciclo de vida que necessita que seus ovos permaneçam em solo por algumas semanas. O clima frio da região norte não favoreceria a sobrevivência desses parasitas em solo, a não ser que a migração tenha sido rápida e por rotas não tão gélidas (CONFALONIERI *et al.*, 1991; ARAÚJO *et al.*, 2008). É importante salientar que as teorias de rota terrestre (via Corredor de Alberta) e rota costeira (via litoral do Pacífico) não são mutuamente exclusivas.

Várias hipóteses a respeito do número de migrações necessárias para explicar o atual padrão de diversidade nos povos nativos americanos foram propostas. Uma das primeiras, formulada por GREENBERG, TURNER e ZEGURA (1986), propõe que três ondas migratórias distintas, vindas do nordeste da Ásia para as Américas, deram origem aos três

grupos linguísticos atualmente encontrados nas populações nativas americanas: Ameríndio, Na-Dene e Esquimó-Aleuta. Essa teoria está caindo em desuso uma vez que apresenta problemas tanto de classificação linguística como de morfologia dentária.

Em 2003, NEVES e colaboradores, propuseram um modelo segundo o qual a ocupação do Novo Mundo se deu a partir da chegada de dois componentes biológicos distintos oriundos da Ásia: a) Os Paleoíndios, representantes da primeira leva de colonizadores com características craniométricas similares à observada em populações Australo-Melanesias e Africanas atuais; b) segunda leva, com morfologia similar à encontrada nos Asiáticos atuais.

Contudo, em 2008, GONZÁLEZ-JOSÉ e colaboradores sugeriram que as morfologias craniofaciais dos Paleoíndios e dos Nativos Americanos atuais poderiam ser extremos de um gradiente de variação morfológica. De acordo com esses autores, os primeiros habitantes do continente americano exibiam uma grande diversidade crânio-facial e apenas uma onda migratória teria ocorrido.

O que aconteceu com os Paleoíndios e por que esse componente biológico desapareceu ainda é um mistério. Os registros mais recentes desta morfologia foram encontrados em grupos indígenas da Terra do Fogo (América do Sul) e em *Pericus* (América do Norte), extintos durante o contato com os Europeus no século XVI (GONZALEZ-JOSÉ *et al.*, 2003). Esse tema é alvo de várias discussões e ainda não há consenso a respeito.

### **O povoamento da América: evidências genéticas**

Inúmeros estudos têm analisado a diversidade genética nas populações ameríndias e a maioria dos marcadores moleculares investigados indicam um padrão de diversidade genética diferente daquele de populações dos demais continentes. Análises em 52 populações ao redor do mundo, por exemplo, com 377 marcadores do tipo microssatélites, que em geral são marcadores genéticos neutros, mostraram um decréscimo na variação genética intra-populacional e na proporção de alelos exclusivos, além de aumento da diferenciação inter-populacional no sentido que parte da África Sub-Saariana, passando por Eurásia, Leste da Ásia e Oceania até a América (ROSENBERG *et al.*, 2005; ZHIVOTOVSKY *et al.*, 2003; PRUGNOLLE *et al.*, 2005). Além disso, os alelos observados em nativos americanos geralmente são subconjuntos dos encontrados no leste asiático, de acordo com a hipótese

de que essas populações foram fundadas a partir de indivíduos vindos da Ásia (revisado em SALZANO, 2002).

Várias hipóteses a respeito do número de migrações para explicar o padrão de diversidade genética no continente americano foram formuladas (ver detalhes em TORRINI *et al.*, 1994; LELL *et al.*, 2002; WALLACE 1995; KARAFET *et al.*, 1999). Atualmente, a hipótese mais aceita é a de apenas uma onda migratória. Ou seja, o padrão de variação genética observada nos nativos americanos atuais pode ser atribuído à diferenciação *in situ* e movimentos populacionais que ocorreram após o povoamento do Novo Mundo. Essa teoria tem encontrado suporte principalmente nos dados de haplogrupos de DNAm (MERRIWETHER *et al.*, 1995; FOSTER *et al.*, 1996; BONATTO e SALZANO, 1997; STONE e STONEKING, 1993), cromossomo Y (PENA *et al.*, 1995; UNDERHILL *et al.*, 1996; BIANCHI *et al.*, 1998; KARAFET *et al.*, 1999; LELL *et al.*, 1997; ZEGURA *et al.*, 2004) e em estudo com microssatélites em cromossomos autossômicos (WANG *et al.*, 2007; SCHROEDER *et al.*, 2007; SCHROEDER *et al.*, 2009).

Os dados também indicam que antes de adentrarem no continente americano os indivíduos viveram por um tempo na Beríngia (região de terra firme com cerca de 1.600km a qual unia a atual Sibéria ao Alasca durante a última era glacial). Essa hipótese se apóia na constatação de que há mutações endêmicas tanto em haplogrupos de DNA mitocondrial (*A2*, *B2*, *C1b*, *C1c*, *C1d*, *D1*, *D4h3* e *X2a*), cromossomo Y (*Q1a3a*) e microssatélites (*D9S1120* com nove unidades repetidas). Esses alelos são compartilhados por indivíduos de praticamente todas as populações nativo-americanas, mas são inexistentes em outras populações do mundo. Assim, acredita-se que os primeiros habitantes permaneceram na Beríngia por um longo período, tempo suficiente para acumular essas mutações (BONATTO e SALZANO, 1997; TAMM *et al.*, 2007; SCHROEDER *et al.*, 2007). Independente das discussões a respeito dos processos migratórios é amplamente aceito pela comunidade científica que a ocupação de todo o continente americano aconteceu por pequenas migrações sequenciais. Sugere-se que um subgrupo da população parental deslocou-se para regiões ainda não habitadas, fundaram novas pequenas populações que se expandiram, das quais partiram outros subgrupos que fundaram outras populações sucessivamente. Como consequência, pequenos gargalos populacionais sequenciais, além do forte efeito fundador, contribuíram para a diminuição da diversidade genética. Esse cenário é corroborado pela observação da



existência de um gradiente de perda de diversidade genética na América do Sul em relação à América do Norte (DIXON, 2001; WANG *et al.*, 2007). Esses dados também ilustram que o sentido do povoamento foi do Norte para o Sul do continente americano.

### **América do Sul: povoamento, padrões de diversidade e questões em aberto**

Apesar de um grande número de populações da América do Sul ter sido alvo de estudos genéticos, a maior parte dos trabalhos busca responder as questões em aberto sobre a chegada do homem na América ou sobre temas microrregionais, sendo que poucos estudos têm investigado como se deu o povoamento específico da América do Sul (TARAZONA-SANTOS *et al.*, 2001).

Acredita-se que a América do Sul tenha sido povoada a partir de grupos de caçadores-coletores vindos através do Istmo do Panamá (KEYEUX *et al.*, 2002). Contudo, alguns autores argumentam que a Selva de Darien, na divisa entre o Panamá e a Colômbia, e o Rio Antrato, na Colômbia, poderiam ter dificultado a travessia.

SCHMITZ (1983) apud SALZANO e CALLEGARI-JACQUES (1988) elaborou um modelo de rotas de migração para a América do Sul, baseado em dados da distribuição dos sítios arqueológicos e análise de marcadores genéticos polimórficos como grupos sanguíneos, antígenos de histocompatibilidade e proteínas séricas e eritrocitárias. O modelo consiste de duas rotas principais: uma rota ao longo da costa do Pacífico e da Cordilheira dos Andes em direção ao extremo sul do continente, e outra rota ao norte da América do Sul, pela Venezuela e Guianas em direção ao leste até o norte da Amazônia. Sugerem-se ainda rotas secundárias pelas Bacias do Rio Amazonas, pelo Rio da Prata e costa Atlântica.

Em 1994 CAVALLI-SFORZA e colaboradores realizaram análise de componente principal de variação a partir de 72 marcadores clássicos em populações desde a América do Norte à América do Sul. Os autores identificaram que 52,9% da variância total observada era explicada pelos três primeiros componentes. Os dois primeiros componentes revelam claras diferenças entre as porções leste e oeste da América do Sul. A partir do segundo componente principal também é possível identificar um gradiente ao longo do norte da região amazônica em direção ao leste, com valores se alterando gradativamente a partir do Panamá em direção à Colômbia, Guianas, Amapá, Pará, até chegar à região central do Brasil (CAVALLI-SFORZA *et al.*, 1994).

Abordagens alternativas utilizando o algoritmo de Monmonnier para identificação de áreas de descontinuidade abruptas identificaram claras diferenças entre o leste e oeste da América do Sul (CAVALLI-SFORZA *et al.*, 1994). Esses resultados foram reproduzidos ao analisar dados de DNA mitocondrial, cromossomo Y e microssatélites autossômicos (FUSELLI *et al.*, 2003; TARAZONA-SANTOS *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2007).

Além dessas diferenças alguns autores sugerem maiores níveis de variabilidade intra-populacional e menores níveis de variabilidade genética inter-populacional nas populações que vivem na porção oeste da América do Sul, em comparação com as populações do leste do continente (TARAZONA-SANTOS *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2007). Contudo, esses achados são baseados em estudos que apresentam uma deficiência amostral para populações ameríndias na região das terras do baixo rio Amazonas (entendem-se por terras baixas as regiões ao leste, a partir do sopé, da Cordilheira dos Andes), as quais podem acrescentar informações e contribuir para melhor esclarecer esse cenário demográfico.

Esse tema será abordado no Capítulo 1, uma vez que buscamos montar um banco de dados com microssatélites autossômicos para onze populações nativas do baixo rio Amazonas, dessa forma buscando realizar uma análise sem as deficiências amostrais dos estudos anteriores. Além disso, realizamos análise para determinar a influência e proximidade genética das populações Andinas e do Noroeste da América do Sul nas populações do Leste da América do Sul.

### **O povoamento da América: implicações seletivas**

Ao povoar o continente americano, as populações encontraram um amplo gradiente latitudinal com grande variação de biomas e climas. O clima e os biomas no final do Pleistoceno eram diferentes dos atuais. As florestas da região neotropical estavam retraídas e as savanas predominavam na paisagem. As mudanças climáticas e ambientais ocorridas no Holoceno (entre 10.000 e 3.000 anos A.P.) levaram ao aumento da temperatura e umidade do planeta e a expansão das florestas tropicais (VUILLEUMIER, 1971).

Sabemos que o ambiente neotropical apresenta uma grande diversidade biológica, em especial da sua fauna. Sendo que quanto maior a diversidade de espécies animais em uma região, maior os riscos de doenças infecciosas e

parasitárias. Somente na região Amazônica, por exemplo, já foram identificados 187 tipos de arbovírus endêmicos, sendo 32 destes capazes de infectar humanos (revisão em CONFALONIERI, 2005). Desta forma, supomos que a ocupação de novos ambientes e o contato com patógenos endêmicos como vírus, bactérias e parasitas tenham exercido significativa pressão seletiva, principalmente sobre genes do sistema imunológico (CONFALONIERI, 2000).

O desencadeamento da resposta imune é extremamente complexo. Um dos mecanismos de ativação da resposta imune, se dá através das proteínas codificadas pelos genes *HLA* (Human Leucocyte Antigen – família genica localizada no Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) no braço curto do cromossomo 6 – 6p21.3). Esses genes codificam proteínas responsáveis pela apresentação de peptídeos (antígenos próprios ou de origem patogênica) na superfície celular, que são reconhecidos pelos linfócitos que ativam a resposta imunológica (ABBAS *et al.*, 2008). A apresentação dos peptídeos na superfície celular depende da capacidade que cada alelo de *HLA* tem de se ligar e apresentar os epítomos específicos. Assim, indivíduos que possuem alelos com alta capacidade de apresentar uma grande gama de epítomos, em especial dos patógenos aos quais está sendo exposto, terão uma maior aptidão (probabilidade de sobrevivência e reprodução) e seus alelos serão transmitidos às gerações seguintes.

Os genes *HLA* são os mais polimórficos do genoma humano e apresentam evidências de estarem evoluindo sobre regime de seleção balanceadora (mecanismo que aumenta a diversidade alélica em relação ao esperado sobre neutralidade) (HEDRICK, 1999). Vários estudos têm utilizado os genes *HLA* para caracterização genética de diferentes populações humanas (SOLBERG *et al.*, 2008, MEYER *et al.*, 2006), com o intuito de caracterizar o modo como a seleção interage com a história demográfica em diferentes regiões. Os estudos desses genes em Ameríndios revelam um padrão distinto do documentado para outros genes. Os genes *HLA* nas Américas apresentam um significativo número de alelos endêmicos e/ou alelos com frequência muito diferenciada de outras regiões do mundo (PARHAM *et al.*, 1997, FRANCISCO, 2009). Além disso, um estudo desenvolvido em nosso grupo de pesquisa detectou sinais de seleção balanceadora para o gene *HLA-B* nessas populações (FRANCISCO, 2009).

Esse tema será o foco do capítulo 2, no qual faremos uma análise comparativa da variação genética presumivelmente neutra (caracterizada no capítulo 1 através de marcadores do tipo microssatélites, espalhados ao longo do genoma) com a que está supostamente sobre seleção (inferida com base em microssatélites localizados próximos a genes *HLA* clássicos).

### **O contato com os Europeus: o gargalo populacional mais recente**

O contato com os europeus a partir do século XV mudou drasticamente a vida dos nativos americanos. A história conta que algumas populações nativas tiveram 90% dos indivíduos dizimados após a chegada dos europeus. Embora uma pequena parcela de nativos tenha sido de fato morta em guerra direta com os estrangeiros, a maioria morreu devido a doenças trazidas pelos colonizadores (como varíola, sarampo, tifo, gripe, tuberculose entre outras) e a fome (BLACK, 1992; DIAMOND, 2006).

Ao contrário do imaginário popular, até mesmo as populações da região leste do continente Sul Americano, que habitavam a floresta Amazônica não viviam isoladas umas das outras, mas eram conectadas por uma intensa rede de comércio (HECKENBERGER, 2008). Desse modo, há relatos que muitas vezes as doenças chegaram às tribos indígenas antes do contato direto com os europeus, levando muitos nativos à morte mesmo sem sequer ter visto o “homem branco” (DIAMOND, 2006; GURGEL, 2010).

A menor capacidade de resposta imune a essas doenças trazidas pelos colonizadores europeus não foi necessariamente uma consequência de um sistema imune deficiente. A maior suscetibilidade das populações nativas americanas está provavelmente associada ao isolamento de 10 mil anos e ao contato abrupto com um conjunto de patógenos completamente estranhos, trazido pelos europeus. Populações europeias, africanas e asiáticas domesticaram animais como bois e aves, que possuem agentes patológicos que são transmitidos ao homem (ex. varíola, sarampo, gripe), e essa convivência selecionou indivíduos, não totalmente imunes, mas capazes de reconhecer e combater essas doenças. A interligação entre Europa, Ásia e África, facilitou o relacionamento entre povos de diferentes continentes possibilitando o intercâmbio gradual e progressivo dos microrganismos e seu

consequente estímulo imunológico. Já os nativos americanos praticamente não tiveram animais para domesticar e seu sistema imune foi estimulado a responder aos patógenos do continente americano. Essa é uma das principais hipóteses de porque o contato com os patógenos europeus foi tão devastador aos nativos (GURGEL, 2010).

As doenças não pouparam as principais lideranças indígenas, o que provocou uma grande desestruturação social. Sem condições para o cultivo da terra, a fome e desnutrição atingiram as populações. Como consequência, os sobreviventes famintos vendiam-se como escravos ou abandonavam suas terras (muitas às margens dos rios) e fugiam para o interior da mata (DIAMOND, 2006; GURGEL, 2010).

Em resumo, o encontro com os europeus levou a um brusco gargalo populacional, e ao deslocamento de muitas populações (ou o que sobrou delas) para outras localidades, criando assim o falso estigma de que as populações nativas sempre foram formadas por pequenos grupos de indivíduos que vivem isolados.

### **História demográfica versus história seletiva**

A partir do exposto acima, é possível constatar que as populações nativas da América possuem uma história demográfica complexa, e separar o efeito da história demográfica da seletiva é um desafio.

É sabido que alguns tipos de eventos demográficos deixam assinaturas idênticas às da seleção natural. Quando a população sofre uma rápida expansão, por exemplo, são encontrados alelos raros nas amostras, um efeito também observado quando houve seleção positiva (a favor de um alelo). Por outro lado, em um evento de gargalo populacional, alelos em baixas frequências são preferencialmente eliminados, deixando os remanescentes em frequências parecidas, um efeito semelhante ao observado em seleção balanceadora (BAMSHAD e WOODING, 2003; NIELSEN, 2005). Consequentemente, a análise de *loci* únicos não permite estabelecer se foram processos demográficos ou seletivos que operam sobre a população.

Para distinguir entre os efeitos seletivos e demográficos sobre a variação genética, utiliza-se do fato que a seleção deixa assinaturas em *loci* específicos e a história demográfica deixa sinais em todo o genoma. Uma forma de abordagem é

comparar, nos mesmos indivíduos, *loci* neutro e *loci* candidatos a estarem sob seleção e verificar se os padrões apresentados são semelhantes ou distintos (AKEY *et al.*, 2004).

No presente estudo nós utilizamos essa abordagem ao analisar marcadores do tipo microsatélites (pequenas sequencias de DNA compostas por motivos de 1 a 6 nucleotídeos repetidos em série, também denominados de STR – *Sort Tandem Repeats*) espalhados pelo genoma e concentrados na região do MHC (*Major Histocompatibility Complex* – Complexo Principal de Histocompatibilidade). Os microsatélites espalhados pelo genoma contaram a história demográfica dessas populações enquanto os microsatélites do MHC são também moldados pela história específica dessa região genômica.

### **Justificativa**

Como exposto na seção anterior, a diversidade genética nas populações é moldada pela ação conjunta de fatores demográficos e seletivos. Um grande desafio nos estudos de genética de populações é caracterizar essa variação e inferir a importância desses dois fatores na origem e manutenção da diversidade. Uma abordagem que permite distinguir entre esses dois fatores é a análise de marcadores neutros e selecionados nos mesmos indivíduos de um conjunto de populações. No presente trabalho, apresentamos um estudo de caso sobre como forças seletivas e demográficas interagem no contexto do estudo da região do MHC, onde se encontram os genes *HLA* (presumivelmente selecionados) e marcadores genômicos (presumivelmente neutros, informativos da história demográfica) em populações nativas do continente americano.

Como a história que estamos tentando interpretar é recente, em termos evolutivos, necessitamos de um tipo de marcador molecular que tenha uma alta taxa evolutiva. Desta forma, optamos por utilizar microsatélites, que possuem alta taxa de mutação ( $10^{-3}$  a  $10^{-6}$ ), altos níveis de polimorfismo e possibilitam empreender estudos multi-locus, que permitem inferências histórico-demográfica e seletiva de alta resolução. Perguntas sobre a micro-evolução das populações nativas americanas, assim como a inferência de eventos demográficos recentes, são viáveis através dessa abordagem.

Sabemos que as populações nativas americanas apresentam padrões demográficos distintos das demais populações do mundo, apresentando menor variabilidade intra-populacional e maior diferenciação inter-populacional. No que diz respeito à variação genética intra-continental, há menos informação, mas estudos anteriores mostram que as populações sul-americanas da região oeste são genética e morfologicamente distintas das populações da região leste. Entretanto, tais resultados são baseados em bancos de dados extremamente limitados para dados de populações do leste do continente. O presente estudo pretende suprir a deficiência de amostragem da região das terras baixas da Amazônia e contribuir para entender os processos de ocupação e diferenciação das populações humanas na América do Sul.

A informação sobre a história e demografia dessas populações servirá para contextualizar nosso estudo sobre como a seleção natural atuou sobre os genes do sistema imune adaptativo, em especial na região do MHC.

No presente estudo analisamos 68 microssatélites autossômicos espalhados pelo genoma em um total de 333 indivíduos pertencentes a 16 populações, que serviram de base para a construção de cenários demográficos apropriados para testar as hipóteses de como a seleção atua sobre esses genes da região do MHC. Os dados para microssatélites da região do MHC, que consistem em 20 *loci* em 590 indivíduos de 30 populações, ajudarão a entender como a seleção atua ou atuou sobre o MHC, em especial sobre o gene *HLA-B*.

## Discussão Geral e Conclusões

---

Neste estudo buscamos contribuir para o esclarecimento de questões em aberto a respeito dos processos demográficos e seletivos da história das populações nativas do continente americano.

Mostramos que, assim como observado por outros autores (ex., TARAZONA-SANTOS *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2007; PUCCIARELLI *et al.*, 2006), existe uma clara diferenciação entre as populações que vivem nas regiões leste e oeste da América do Sul. Essa diferenciação foi inferida através da análise baseada em genótipos multi-*locus* usando o método bayesiano de atribuição de grupos a genótipos, implementado no programa STRUCTURE, e aponta que há diferenças nos perfis genotípicos de cada uma dessas regiões. Ao subdividirmos a região oeste em Andina e Noroeste, mostramos que elas também são diferenciadas, e que as populações da região andina apresentam índices de diferenciação extremamente baixos ( $F_{ST} = 0,018$ ), achado coerente com efeito homogenizador associado à dinâmica populacional dessa região, que inclui os descendentes do Império Inca, o qual estreitou relações e promoveu a interação entre os povos da região andina, o que indiretamente levou a um maior fluxo gênico na região como sugerido por TARAZONA-SANTOS *et al.* (2001). Já a região noroeste apresenta um  $F_{ST}$  mais elevado (0,0783), possível reflexo do modo de vida semelhante ao observado no leste da América do Sul.

Com uma amostragem de 20 populações na porção leste da América do Sul, (5 da região oeste da Amazônia, 11 do leste da Amazônia e 4 do centro-sul do leste da América do Sul) pudemos confirmar que essa região apresenta os menores índices de diversidade e maior diferenciação populacional do mundo. À luz da atual visão da região amazônica pré-colombiana como dispendo de uma ampla rede de comércio e maior interação entre as populações, buscamos esclarecer porque os dados genéticos sugerem uma história demográfica aparentemente mais fácil de conciliar com uma história de populações relativamente pequenas e isoladas. Identificamos que algumas populações específicas (como, Arara do Iriri, Araweté, Surui e Ticuna Tarapaca) contribuem desproporcionalmente para a elevação da diferenciação populacional na região. Essas populações apresentam histórias evolutivas marcadas por gargalos populacionais, efeito fundador extremo e amostras incluindo indivíduos aparentados, o que contribui para menor diferenciação intra e maior diferenciação inter-populacional (como verificado previamente – WANG *et al.*, 2007). Por outro lado, mostramos que as demais populações da região leste apresentam índices de diferenciação inter-populacional



semelhante aos observados para as populações da região Noroeste da América do Sul corroborando os estudos morfológicos de PUCCIARELLI et al. (2006) . Como mencionado anteriormente, a região Noroeste da América do Sul e a Amazônia brasileira (onde estão localizadas a maioria das nossas amostras) apresentam bioma e clima semelhante, o que pode ter favorecido as duas regiões a apresentarem modos de vida semelhante.

Nosso estudo documentou uma grande diferenciação entre a região leste e sudoeste da Amazônia. Esse resultado já havia sido verificado através de análises com marcador uniparental (DNAmT – MENDES JUNIOR, 2005) e com marcadores genéticos clássicos e dados antropométricos (SALZANO e CALLEGARI-JACQUES, 1988). Contudo, esta é a primeira vez que esse resultado é apresentado com base em marcadores moleculares autossômicos. Também verificamos, através de análises de ancestralidade, que a região sudoeste da Amazônia apresenta um predomínio de componente genético das populações do Noroeste da América do Sul, enquanto as populações do leste apresentam maior componente genético das populações Andinas. Apesar desses resultados corroboram a hipótese de rotas migratórias para o leste da América do Sul descritas por SCHMITZ em 1983 julgamos a nossa análise sensível a estruturação populacional por isso sugerimos que novas análises baseadas em ABC, por exemplo, sejam realizadas futuramente.

O desafio de oferecer um panorama da história e demografia das populações nativas sul-americanas tinha dois objetivos: (a) contribuir para a compreensão da história das populações nativas, e (b) criar uma base de dados neutra, que serviu de referência para o estudo de como a seleção natural moldou a variação em genes específicos de populações nativas da América do Sul. Esse segundo aspecto será discutido a seguir.

Estudos recentes mostram que a história demográfica (geografia) tem um papel central na determinação dos padrões de variação genômicos. Por exemplo, COOP *et al.* (2009), mostraram que até mesmo genes com forte evidência de estarem sob seleção positiva apresentam padrões de variação global que são em sua maior parte explicáveis pela história demográfica das populações, reveladas pelos demais *loci*. No presente estudo buscamos investigar de que modo a história demográfica (notadamente caracterizada por gargalos populacionais e concomitante perda de diversidade, no caso das populações indígenas da América do Sul), interage com os processos seletivos, que são muito bem documentados para genes da região do MHC, levando a um aumento de diversidade em relação às expectativas neutras.

Assim, seguindo a estratégia de COPP *et al.*, (2009), analisamos os padrões de variação e diferenciação genética em regiões candidatas a seleção natural, comparando-as com medidas desses mesmos parâmetros, porém vindo de regiões

aleatórias do genoma, dessa forma refletindo a história demográfica. Nossa abordagem consistiu na comparação de microssatélites da região do MHC e fora dele, uma estratégia que contorna as dificuldades metodológicas associadas à comparação de diferentes classes de marcadores moleculares (ex. comparação de genes HLA com microssatélites ou RFLPs – MEYER *et al.*, 2006; SANCHEZ-MAZAS *et al.*, 2007).

Nosso resultado mais surpreendente foi que os microssatélites da região do MHC apresentam diferenciação populacional superior ao observado para os microssatélites espalhados pelo genoma (nosso controle demográfico), tanto nas análises de regressão como nas de  $F_{ST}$  *outliers*, em que simulações são usadas para inferir um intervalo de confiança associado à amplitude de valores de  $F_{ST}$  esperada sob neutralidade. Testes de aleatorização mostraram que a diferenciação maior para microssatélites do MHC não é explicável por efeitos amostrais (isto é, o tamanho pequeno da amostra de microssatélites do MHC sendo empregados), e uma comparação entre di e tetranucleotídeos sugere que uma diferenciação maior para dinucleotídeos, mesmo que exista, tem um efeito sensivelmente menor do que aquele observado na comparação de microssatélites do MHC e do restante do genoma.

Nossa expectativa original era baseada na premissa de que a seleção balanceadora, por reduzir a intensidade de deriva genética, resultaria em níveis de diferenciação reduzidos em relação à média (presumivelmente neutra) genômica (ex., AKEY *et al.*, 2002, MEYER *et al.*, 2006). Como os genes *HLA* estão sob intensa seleção balanceadora, e os microssatélites do MHC, em muitos casos, estão em desequilíbrio de ligação com os genes clássicos, nossa expectativa era de que os microssatélites refletiriam essa consequência do processo seletivo, resultando em valores mais baixos de  $F_{ST}$  para os microssatélites do MHC em relação aos genômicos.

Nossa interpretação para o achado de maior diferenciação nos microssatélites do MHC leva em conta a forma como a seleção natural atua sobre os genes *HLA*. Ao invés de supor que a seleção balanceadora favorece heterozigotos de modo geral, independentemente do genótipo específico (e, portanto da especificidade da resposta que montam frente a patógenos), é razoável supor que os alelos favorecidos em cada população sejam determinados por um processo co-evolutivo, determinado pela interação com os patógenos (ex. BORGHANS *et al.*, 2004). Tal regime pode, simultaneamente, resultar em aumento de diversidade intra-populacional (uma das assinaturas de seleção balanceadora), e aumentar a diferenciação populacional. Em outras palavras, por mais que o regime de seleção balanceadora favoreça a diversidade, não necessariamente os mesmos alelos serão

favorecidos nas diferentes populações ou grupos. Nosso resultado é consistente com uma série de achados recentes, que sugerem que o regime de seleção que atua sobre genes *HLA* pode resultar em maior diferenciação populacional, ao contrário do que se supunha anteriormente (ex. BHATIA *et al.*, 2011). A razão que esse padrão não era visto na análise de genes *HLA*, mas tornou-se visível no estudo de microssatélites que os flanqueiam, resulta da limitação de medidas de  $F_{ST}$  no contexto de marcadores altamente polimórficos: a alta variabilidade intra-populacional reduz os valores de  $F_{ST}$ , mesmo diante da alta diferenciação no conjunto de alelos.

Também verificamos que existe uma associação não aleatória de alelos de microssatélites com os alelos e as linhagens do gene *HLA-B*. Esse resultado também é surpreendente, se levarmos em consideração que as linhagens de *HLA-B* são antigas, muitas existindo desde antes da especiação humana. Diante dessa antiguidade, esperaríamos uma maior diversidade entre os alelos de microssatélites associados a cada uma delas. Sugerimos que o padrão observado pode ser decorrente de dois fatores, não mutuamente exclusivos: a) o gargalo populacional na ocupação do continente americano pode ter diminuído consideravelmente a diversidade associada às linhagens; b) a seleção natural estaria atuando não apenas no nível alélico, mas também ao nível de organização biológica que corresponde às linhagens, resultando numa diminuição da variação dentro destas.

No presente estudo mostramos que a história demográfica teve um papel decisivo para moldar a variação genética nas populações nativas do continente americano. Contudo, baseado em nosso controle demográfico (perfil dos microssatélites espalhados pelo genoma) percebemos que ela não explica todo o padrão de diferenciação observado nos microssatélites do MHC, e que a seleção natural resultou em um aumento da diferenciação populacional para esses genes.

## Referências Bibliográficas

---

Abbas AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. *Imunologia celular e molecular*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

Abuazar CS, (2008) Análise de microssatélites da região MHC em uma amostra de doadores voluntários de medula óssea. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado

Akey JM, Eberle MA, Rieder MJ, Carlson CS, Shriver MD, Niskerson A, Kruglyak L. "Population history and natural selection shape patterns of genetic variation in 132 genes". *PloS Biol*. 2004, 2:1591-99.

Akey JM. "Constructing genomic maps of positive selection in humans: where do we go from here?" *Genome research*. 2009, 19(5), 711-22.

Amos W, Hoffman JI. "Evidence that two main bottleneck events shaped modern human genetic diversity". *Proc Biol Sci*. 2010, 7;277(1678):131-7.

Andres AM, Hubisz MJ, Indap A, Torgerson DG, Degenhardt JD, Boyko AR, Gutenkunst RN, *et al*. "Targets of Balancing Selection in the Human Genome." *Mol Biol Evol* . 2009.26 (12) (December): 2755-2764.

Antao T, Lopes A, Lopes RJ, Beja-Pereira A, Luikart G. "LOSITAN: a workbench to detect molecular adaptation based on a Fst-outlier method". *BMC Bioinformatics*. 2008, 28;9:323.

Apanius V, Penn D, Slev PR, Ruff LR, Potts WK. "The nature of selection on the major histocompatibility complex". *Crit. Rev. Immunol.*, 1997, 17(2), pp. 179-224.

Araújo A, Reinhard KJ, Ferreira LF, Gardner SL. "Parasites as a probes for prehistoric human migrations". *Trends Parasit*. 2008, 24(3):112-115.

Balaresque PL, Ballereau SJ, Jobling MA. "Challenges in human genetic diversity: demographic history and adaptation". *Hum Mol Genet*. 2007, Oct 15;16.

Bamshad M e Wooding SP. "Signatures of natural selection in the human genome". *Nature Rev. Genet*. 2003, 4: 99-111.

Barbujani G, Magagni A, Minch E, Cavalli-Sforza LL. An apportionment of human DNA diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997, 94:4516-4519.

Belich MP, Madrigal JA, Hildebrand WH, Zemmour J, Williams RC, Luz R, Petzl-Erler ML, Parham P. "Unusual *HLA-B* alleles in two tribes of Brazilian Indians". *Nature*. 1992 May 28;357(6376):326-9.

Bhatia G, Patterson N, Pasaniuc B, Zaitlen N, Genovese G, Pollack S, Mallick S, Myers S, Tandon A, Spencer C, Palmer CD, Adeyemo AA, Akyzbekova EL, Cupples LA, Divers J, Fornage M, Kao WH, Lange L, Li M, Musani S, Mychaleckyj JC, Ogunniyi A, Papanicolaou G, Rotimi CN, Rotter JJ, Ruczinski I, Salako B, Siscovick DS, Tayo BO, Yang Q, McCarroll S, Sabeti P, Lettre G, De Jager P, Hirschhorn J, Zhu X, Cooper R, Reich D, Wilson JG, Price AL. "Genome-wide Comparison of African-Ancestry Populations from CARE and Other Cohorts Reveals Signals of Natural Selection". *Am J Hum Genet.* 2011, 89(3):368-81.

Bianchi NO, Catanesi CI, Bailliet G, Martinez-Marignac VL, Bravi M, Videl-Rioja LB, Herrera RJ, Lopez-Camelo JS. "Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World native populations". *Am J Hum Genet.* 1998, 63:1862-71.

Bitarello BD, (2011) Seleção natural em genes HLA: uma investigação da localização molecular e temporal dos eventos de seleção. Universidade de São Paulo. Dissertação de Mestrado.

Black FL. "Why did they die?" *Science.* 1992, 5089(258):1739-40.

Bonato SL, Salzano FM. "A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data". *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997, 94:1866-71.

Bubb K.L.; Bovee D.; Buckley D.; Haugen E.; Kibukawa M.; Paddock M.; Palmieri A.; Subramanian S.; Zhou Y.; Kaul R.; Green P.; Olson M.V. "Scan of human genome reveals no new *Loci* under ancient balancing selection". *Genetics*, 2006, 173(4):2165-77.

Bustamante CD, Fledel-Alon A, Williamson S, Nielsen R, Hubisz MT, Glanowski S, Tanenbaum DM, White TJ, Sninsky JJ, Hernandez RD, Civello D, Adams MD, Cargill M, Clark AG. "Natural selection on protein-coding genes in the human genome". *Nature.* 2005, 437(7062):1153-7.

Cadauid LF, Watkins DI. "The duplicative nature of the MHC class I genes: an evolutionary perspective". *Eur J Immunogenet.* 1997, 24(4):313-22.

Cavalli-Sforza LL, Menozzi P e Piazza A. *The history and geography of human genes.* Princeton: Princeton University Press, 1994.

Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. "The Application of Molecular Genetic Approaches to the Study of Human Evolution". *Nature Genetics Supplement.* 2003, 33: 266-275.

Confalonieri U, Ferreira, LF, Araújo A. "Intestinal helminths in Lowland South America Indians: some evolutionary interpretations". *Hum. Bio.* 1991, 63:863-73.

Confaloneiri UEC. "Environmental change and human health in the Brazilian Amazon". *Global Change & Human Health*. 2000, 1(2):174-183

Confalonieri, UEC. "Saúde na Amazônia: um modelo conceitual para a análise de paisagens e doenças". *Est. Av.* 2005, 19(53):221-35.

Cornuet JM and Luikart G. "Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data". *Genetics*. 1997, 144:2001-2014.

Cruxent JM. Theses for meditation on the origin and distribution of man in South America. In: *Biomedical challenges presented by the Amerindian Indian Pan American*. Health Organization Scientific Publication. 1968. Vol 165 Washington, DC 11-16.

Cunha MC. (1992). *Historia dos índios no Brasil*. São Paulo: Companhia das Letras. 611p.

De Boer RJ; Borghans JA; van Boven M; Keşmir C; Weissing FJ. "Heterozygote advantage fails to explain the high degree of polymorphism of the MHC". *Immunogenetics*, 2004, 55(11), pp. 725-31.

Diamond J. *Armas Germes e Aço: os destinos das sociedades humanas*. Tradução: Silvia de Souza Costa. Rio de Janeiro: Record. 2006. 8ed.

Dillehay TD. *Monte Verde, a late pleistocene settlement in Chile vol 2 The archaeological context and interpretation*. Smithsonian Institution Press: Washington, DC. 1997.

Dillehay TD, Ramirez C, Pino M, Collins MB, Rossen J, Pino-Navarro JD. "Monte Verde: seaweed, food, medicine, and the peopling of South America". *Science*. 2008, 320:784-6.

Dixon EJ. "Human colonization of the Americas: timing, technology and process. Quaternary ". *Science Reviews*. 2001, v.20, p.277-299.

Doherty, PC. e Zinkernagel, RM. "Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex". *Nature*, 1975, 256, pp. 50-52.

Excoffier L, Lischer HEL. "Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows". *Molecular Ecology Resources*. 2010, 10:564-567.

Fiedel SJ. "The peopling of the New World: present evidence, new theories, and future directions". *J. Archaeol Res*. 2000, 8:39-103.

Fladmark KR. "Routes – alternate migration corridors for early man in North-

America". *Am. Antiq.* 1979, 44:55-69.

Foster P, Harding R, Torroni A, Bandelt HJ. "Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal". *Am J Hum Genet.* 1996, 1:151-57.

Foster ELS. (2004) *Racismo e movimentos instituintes na escola.* Universidade Federal Fluminense. Tese de doutorado.

Francisco R. (2009). *Polimorfismo e Evolução do gene HLA-B nas Américas.* Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado.

Fuselli S, Tarazona-Santos E, Dupanloup I, Soto A, Luiselli D, Pettener D. "Mitochondrial DNA diversity in South América and the Genetic History of Andean Highlanders". *Mol Biol Evol.* 2003, 20:1682-91.

González-José R, González-Martín A, Hernández M, Pucciarelli HM, Sardi M, Rosales A, Van der Molen S. "Cranio-metric evidence for Paleoamerican survival in Baja California". *Nature.* 2003, 425:62-5.

González-José R, Bortolini MC, Santos FR, Bonatto SL. "The peopling of America: craniofacial shape variation on a continental scale and its interpretation from an interdisciplinary view". *Am. J. Phys Anth.* 2008, 137:175-87.

Greenberg JH, Turner CG, Zegura SL. "The settlement of the America – a comparison of linguistic, dental, and genetic-evidence". *Curr Anthropol.* 1986, 27:477-97.

Guo SW, Thompson EA. "Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiplex alleles". *Biometrics.* 1992, 48:361-72.

Gurgel C. *Doenças e Curas: o Brasil nos primeiros séculos.* São Paulo: Contexto. 2010.

Harris, EE e Meyer D. "The Molecular Signature of Selection Underlying Human adaptations." *Am. J. of Phys. Anth.*, 2006 doi:10.1002/ajpa.

Heckenberger M. 2006. "Ecologia e Poder: a base simbólica da economia na Amazônia". In: Forline L., Murrieta R.S.S., Vieria, I.C.G. org. *Amazônia além dos 500 anos.* Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi. pp.39:69

Heckenberger M. 2008. "History, ecology and alterity – visualizing polity in ancient Amazonia". In: Silverman H, Isbell W.H. editors. *Handbook of South American Archaeology.* New York: Springer. pp311:340.

Heckenberger M., Neves EG. "Amazonian archaeology". *Annu Rev Antropol.* 2009, 38:251-66

Hedrick PW e Thomson G. "Evidence for balancing selection at HLA". *Genetics,* 1983,

104(3):449-56.

Hedrick PW, 1987 "Gametic disequilibrium measures: proceed with caution". *Genetics* 117: 331–41.

Hedrick PW. "Balancing selection and MHC". *Genetica*. 1999, 104:207–214.

Hedrick PW. "Pathogen resistance and genetic variation at MHC *loci*". *Evolution*, 2002, 56(10), pp. 1902-8.

Henn BM, Gignoux CR, Jobin M, Granka JM, Macpherson JM, Kidd JM, Rodrigues-Botigué L, Ramachandran S, Hon L, Brisbin A, Lin AA, Underhill PA, Comas D, Kidd KK, Norman PJ, Parham P, Bustamante CD, Mountain JL, Feldman MW. "Hunter-gatherer genomic diversity suggests a southern African origin for modern humans". *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011, 108:5154-62.

Hughes AL, Nei M. "Pattern of nucleotide substitution at major histocompatibility complex class I *loci* reveals overdominant selection". *Nature*.1988 Sep 8;335(6186):167-70.

Hughes AL. "Natural selection and the diversification of vertebrate immune effectors." *Immunological reviews*. 2002, 190: 161-8.

Huttley GA; Smith MW; Carrington M; O'Brien SJ "A scan for linkage disequilibrium across the human genome". *Genetics*, 1999, 152(4):1711-22.

IBGE [On line]. Disponível: <http://www.ibge.gov.br/brasil500/index2.html> [capturado em 10 de setembro de 2011].

Ingman M, Kaessmann H, Paabo S, Gyllensten U. "Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans". *Nature*. 2000, 408:708–13.

Instituto Socio Ambiental [On line]. Disponível: [www.socioambiental.org](http://www.socioambiental.org) [capturado em 10 de setembro de 2011].

Jablonski NG. "The evolution of human skin and skin color". *Annu.Rev. Anthropol.* 2004, 33:585–623.

Jakobsson M, Rosenberg NA. "Clumpp: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure". *Bioinformatics*. 2007, 23(14): 1801-06.

Jobling MA, Hurles M, Tyler-Smith C (2004) *Human evolutionary genetics: origins, people e disease*. Garland Science, New York.

Jost L. " $G_{ST}$  and its relatives do not measure differentiation". *Molecular Ecology*. 2008, 17:4015–26.



Karafet TM, Zegura SL, Posukh O, Osipova L, Bergen A, Long J, Goldman D, Klitz W, Harihara S, de Knijff P, Wiebe V, Griffiths RC, Templeton AR and Hammer MF. "Ancestral Asian source(s) of New World Y-chromosome founder haplotypes". *Am J Hum Genet.* 1999, 64:817-31.

Keyeux G, Rodas C, Gevez N, Carter D. "Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA studies in Colombian Amerindian populations". *Hum. Biol.* 2002, 74:211-33.

Kimmel M, Chakraborty R, King JP, Bamshad M, Watkins WS, Jorde LB. "Signatures of population expansion in microsatellite repeat data". *Genetics.* 1998, 148:1921-30.

King JP, Kimmel M, Chakraborty R. "A power analysis of microsatellite based statistics for inferring past population growth". *Mol. Biol. Evol.* 2000, 17(12):1859-2000.

Klein J, Satta Y, Takahata N, O'hUigin C. "Trans-specific Mhc polymorphism and the origin of species in primates". *J Med Primatol.* 1993, 22(1):57-64.

Kwiatkowski DP. "How malaria has affected the human genome and what human genetics can teach us about malaria". *Am. J. Hum. Genet.* 2005, 77: 171–92.

Lahiri DK e Nurenberg Jr JL. "A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DANN from blood for RFLP studies". *Nucl Acid Res.* 1991, 19:5444.

Lancaster AK, Single RM, Solberg OD, Nelson MP, Thomson G. "PyPop update - a software pipeline for large-scale multi/locus population genomics" *Tissue Antigens,* 2007 69 (s1), 192-97.

Lell JT, Schurr TG, Sukernik RI, Starikovskaya YB, Torroni A, Moore LG, Troup GM, Wallace DC. "Y chromosome polymorphisms in Native American and Siberian populations: Identification of Native American Y chromosome haplotypes". *Hum Genet.* 1997,100:536-43.

Lell JT, Sukernik RI, Starikovskaya YB, Jin L, Su B, Schurr TG, Underhill P, Wallace DC. "The dual origins and Siberian affinities of Native American Y chromosomes". *Am J Hum Genet.* 2002, 70:192–206.

Lewontin RC.(1974). *The Genetic Basis of Evolutionary Change.* New York: Columbia University Press.

Malkki, M.; Single, R.; Carrington, M.; Thomson, G.; Petersdorf, E. "MHC microsatellite diversity and linkage disequilibrium among common HLA-A, HLA-B, DRB1 haplotypes: implications for unrelated donor hematopoietic transplantation and disease association studies". *Tissue Antigens,* 2005, 66:114-124.

Mann CC (2007) 1491 Novas revelações das Américas antes de Colombo. Tradução:

Renato Aguiar. Rio de Janeiro: Objetiva. 471p.

Mendes Junior CT (2005) DNA mitocondrial na Amazônia Brasileira: Estrutura genética regional e inferências continentais. Universidade de São Paulo. Tese de Doutorado

Merriwether DA, Rothhammer F, Ferrell RE. "Distribution of the four founding lineage haplotype in Native Americans suggests a single wave of migration for the New World". *Am J Phys Anthropol.* 1995, 98:411-30.

Mesa NR, Mondragon MC, Soto ID, Parra MV, Duque D, Ortiz-Barrientos D, *et al.* "Autosomal, mtDna, and y-chromosome diversity in Amerinds: pre- and post-Columbian patterns of gene flow in South America". *Am j hum genet* 2000; 67: 1277-86.

Meyer, D, RM Single, SJ Mack, HA Erlich, and G Thomson. 2006. "Signatures of demographic history and natural selection in the human major histocompatibility complex *loci*." *Genetics* 173 (4): 2121-42.

Neves WA, Prous A, González-José R, Kipnis R, Powell J."Early Human skeletal Remains from Santana do Riacho, Brazil: implications for the settlement of the New World", *Journal of Human Evolution.* 2003, vol. 45: 19-42.

Neves EG, 2006. *Arqueologia da Amazônia.* Rio de Janeiro: Jorge Zahar. 86p

Neves EG, Petersen JB. 2008. "Political economy and pre-Colombian landscape transformations in Central Amazonia". In: Silverman H, Isbell W.H. editors. *Handbook of South American Archaeology.* New York: Springer. pp279:309

Nielsen R, Williamson S, Kim Y, Hubisz MJ, Clark AG, Bustamante C. "Genomic scans for selective sweeps using SNP data". *Genome Res.* 2005, 15(11):1566-75.

Noelli FS. (2008) "The Tupi expansion". In: Silverman H, Isbell W.H. editors. *Handbook of South American Archaeology.* New York: Springer. pp. 659:670.

Oliveira, LA. (2007). Diversidade populacional de microssatélites do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) em populações indígenas do Paraná e do Mato Grosso do Sul. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de Mestrado.

Parham P, Arnett KL, Adams EJ, Little AM, Tees K, Barber LD, Marsh SG, Ohta T, Markow T, Petzl-Erler ML. "Episodic evolution and turnover of *HLA-B* in the indigenous human populations of the Americas". *Tissue Antigens.* 1997, 50(3):219-32.

Pena SDJ, Santos FR, Bianchi NO, Bravi CM, Carnese FR, Rothhammer F, Gerelsaikhan T, Munkhtuja B, Oyunsuren T. "A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians". *Nat Genet.*1995, 11:15–16.

Petzl-Erler ML, Sotomaior LVS. "The HLA polymorphism of two distinctive South-American Indian tribes: the Kaingang and the Guarani". *Tiss. Antig.* 1993, 41:227-37.

Pompanon F, Bonin A, Taberlet P. "Genotyping errors: causes, consequences and Solutions". *Nature.* 2005, 6;847-59.

Pritchard JK, Wen X, Falush D. Structure software: version 2.3. 2010. Disponível em: <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>

Prugnolle F.; Manica A.; Balloux F. "Geography predicts neutral genetic diversity of human populations". *Current Bio.* 2005. 15:59-60.

Pucciarelli HM, Neves WA, González-José R, Saedi ML, Rozzi FR, Sruck A, Bonilla MY. "East-West cranial differentiation in pre-Columbian human populations of South America". *J Hom Comp Hum Biol.* 2006. 57:133-50.

Ramachandran S., Deshpande O, Roseman CC, Rosenberg NA, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL. "Support from the relationship of genetic and geographic distance in human populations for a serial founder effect originating in Africa". *PNA.* 2005, 102:15942-47.

Ribeiro-Santos AKC, Guerreiro JF, Santos SEB, Zago MA. "The Split of the Arara Population: Comparison of Genetic Drift and Founder Effect". *Hum Hered.* 1999, 51:79-84.

Rodrigues-Delfin LA, Rubin de Celis VE, Zago MA. "Genetic diversity in an Andean population from Peru and regional migration patterns of Amerindians in South America: data from Y chromosome and mitochondrial DNA". *Hum Hered.* 2001, 51:97-106.

Rogers RA; Rogers LA; Martin LD. "How the door opened: the peopling of the new world". *Human Molecular Genetics.* 1995, 4:1869-74.

Ronald J, Akey JM. "Genome-wide scans for *loci* under selection in humans". *Hum Genomics* 2005 Jun;2(2):113-25.

Rosenberg NA, Pritchard JK, Weber JL, Cann HM, Kidd KK, Zhivotovsky LA e Feldman MW. "Genetic structure of human populations". *Science.* 2002, 298:2381-5.

Rosenberg NA. "Distruct: a program for the graphical display of population structure". *Molecular Ecology Notes.* 2004, 4:137-8.

Rosenberg NA, Mahajan S, Ramachandran S, Zhao C, Pritchard JK, *et al.* "Clines, Clusters, and the Effect of Study Design on the Inference of Human Population Structure". *PLoS Genet.* 2005,1(6): e70.

Sabeti PC, Varilly P, Fry B, Lohmueller J, Hostetter E, Cotsapas C, Xie X, Byrne EH, McCarroll SA, Gaudet R, Schaffner SF, *et al.* "Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations". *Nature*. 2007, 18;449(7164):913-8

Salzano FM, Callegari-Jacques SM (1988). *South American Indians: a case study in evolution*. Oxford University Press, New York.

Salzano FM. "Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information". *An Acad Bras Cienc*. 2002, 74(2):223-63.

Salzano FM, Callegari-Jacques SM. "Amerindian and Amerindian autosome molecular variability – a test analysis". *Genetica*. 2006, 126:237-42.

Salzano FM. *The prehistoric Colonization of the Americas*. In: *Antropological Genetic*. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.p. 433-55.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. (1989). *Molecular cloning – a laboratory manual*. 2ed. Cold Sping Harbor Laboratory Press.

Sanchez-Mazas, A. "An apportionment of human HLA diversity." *Tissue Antigens*. 2007, 1 (8): 198-202.

Santos SEB, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-Dos-Santos AKC, Hutz MH, Tovo-Rodrigues L, Salzano FM, Callegari-Jacques SM. "Autosomal STR Analyses in Native Amazonian Tribes Suggest a Population Structure Driven by Isolation by Distance". *Hum Bio*. 2009: 81(1):77-88.

Schroeder KB, Schurr TG, Long JC, Rosemberg NA, Crawford MH, Tarskaia LA, Osipova LP, Zhadanov SI, Smith DG. "A private allele ubiquitous in the Americas". *Biol Lett*. 2007, 3(2): 218–223.

Schroeder KB, Jakobsson M, Crawford MH, Schurr TG, Boca SM, Conrad DF. "Haplotypic background of a private allele at high frequency in the Americas". *Mol. Biol. Evol*. 2009, 26:995-1016.

Schurr TG, Sherry ST. "Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the American evolutionary and demographic evidence". *Am J Hum Biol*. 2004,16:420-39.

Slatkin M. "Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future". *Nat Rev Genet*. 2008,9(6):477-85.

Solberg OD, Mack SJ, Lancaster AK, Single RM, Sanchez-Mazas A, Tsai Y, and Thomson G *Balancing selection and heterogeneity across the classical human leukocyte antigen loci: A meta-analytic review of 497 population studies*. *Human Immunology*, 2008; 69(7): 443-464.

Stephens M, Donnelly P. "A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data". *Am J Hum Genet.* 2003, 73(5):1162-9.

Stone AC, Stoneking M. "Ancient DNA from a pre-Colombian Amerindian population". *Am J Phys Anthropol.* 1993, 92:463-71.

Tamm E, Kivisild T, Reidla M, Metspalu M, Smith DG, Mulligan CJ *et al.* "Beringian standstill and spread of Native American founders". *PLoS ONE.* 2007: 9e829.

Tarazona-Santos E, Carvalho-Silva DR, Pettener D, Luiselli D, Stefano GFD, Labarga CM, Rickards O, Tyler-Smith C, Pena SDJ, Santos FR. "Genetic differentiation in south amerindians is related to environmental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome". *Am. J. Hum. Genet.* 2001, 68:1485–96.

Tishkoff SA, Kidd KK. "Implications of biogeography of human populations for 'race' and medicine". *Nat Genet.* 2004 Nov;36(11 Suppl):S21-7.

Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman, JS, Powell K., Mortensen HM, Hirbo JB, Osman M. *et al.* "Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe". *Nat. Genet.* 2007, 39:31–40.

Tishkoff SA, Reed FA, Friedlaender FR, Ehret C, Ranciaro A, Froment A, Hirbo JB, Awomoyi AA, Bodo JM, Doumbo O, Ibrahim M, Juma AT, Kotze MJ, Lema G, Moore JH, Mortensen H, Nyambo TB, Omar SA, Powell K, Pretorius GS, Smith MW, Thera MA, Wambebe C, Weber JL, Williams SM. "The genetic structure and history of Africans and African Americans". *Science.* 2009, 324 (5930):1035-44.

Torrini A, Nell JV, Barrantes R, Schurr TG, Wallace DC. "Mitochondrial DNA 'clock' for Amerindian and its implications for timing their entry into North American". *Proc. Nat. Ac. Sci. USA.* 1994. 91:1158-62.

Trachtenberg, E; Korber, B; Sollars, C; Kepler, TB; Hraber, PT; Hayers E.; *et al.* "Advantage of rare HLA supertype in HIV disease progression". *Nat. Med.* 2003, 9(7):928-35.

Tsuneto LT, Probst CM, Hutz MH, Salzano FM, Rodrigues-Delfin LA, Zago MA, Hill K, Hurtado AM, Riberio-dos Santos AKC, Petzl-Erler ML. "HLA class II diversity in seven Amerindian populations. Clues about the origins of the Ache". *Tiss Antig.* 2003, 62:512-26.

Underhill PA, Jin L, Zemans R, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL. "A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history". *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996, 93:196–200.

Underhill PA, Shen P, Lin AA, Jin L, Passarino G, Yang WH, Kauffman E, Bonne-Tamir

B, Bertranpetit, Francalacci P, Ibrahim M, Jenkins T, Kidd JR, Mehdi SQ, Seielstad MT, Wells RS, Piazza A, Davis RW, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL, Oefner PJ. "Y chromosome sequence variation and the history of human populations". *Nat Genet.* 2000, 26:358–61.

Villadangos JA, Schnorrer P. "Intrinsic and cooperative antigen-presenting functions of dendritic-cell subsets in vivo". *Nat Rev Immunol.* 2007,7(7):543-55.

Voight BF, Kudaravalli S, Wen X, Pritchard JK. "A map of recent positive selection in the human genome". *PLoS Biol.* 2006 Mar;4(3):e72. Epub 2006 Mar 7. Erratum in: *PLoS Biol.* 2006 Apr;4(4):e154. *PLoS Biol.* 2007 Jun;5(6):e147.

Vuilleumier SB. Pleistocene changes in flora and fauna of South America. *Science.* 1971, 173:771-80.

Wallace DC. "Mitochondrial DNA variation in human evolution, degenerative disease, and aging". *Am J Hum Genet.* 1995, 57:201-23.

Walters MR, Stafford Jr TW. "Redefining the age of Clovis: implications from peopling of the Americas". *Science.* 2007, 315:1122-26.

Wang S, Lewis CM, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, Bedoya G, Rojas W, Parra MV, Molina JA, Gallo C, Mazzotti G, Poletti G, Hill K, Hurtado AM, Labuda D, Klitz W, Barrantes R, Bortolini MC, Salzano FM, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Llop E, Rothhammer F, Excoffier L, Feldman MW, Rosenberg NA, Ruiz-Linares A. "Genetic variation and population structure in native Americans". *PLoS Genet.* 2007,3(11).

Watkins DI, McAdam SN, Liu X, Strang CR, Milford EL, Levine CG, Garber TL, Dogon AL, Lord CI, Ghim SH, *et al.* "New recombinant *HLA-B* alleles in a tribe of South American Amerindians indicate rapid evolution of MHC class I *loci*". *Nature.* 1992 May 28;357(6376):329-33

Zegura SL, Karafet TM, Zhivotovskiy LA, Hammer MF. "High-Resolution SNPs and Microsatellites Haplotype Point to a Single, Recent Entry of Native American Y Chromosomes into the Americas". *Mol Biol Evol.* 2004, 21:164-75.

Zhivotovskiy LA, Rosenberg N, Feldman M. "Features of evolution and expansion of modern humans, inferred from genomewide microsatellites markers". *Am J Hum Gen.* 2003, 72:1171-86.