

FRECUENCIAS DE UN ALELO DEL GEN EDAR
EN TOTONACOS DE LA SIERRA NORTE DE PUEBLA
Y MESTIZOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

Tábita Hünemeier,^a Paola Everardo,^b Mónica Ballesteros,^b Gastón Macín,^b Gabriela Sánchez-Mejorada,^c Samuel Canizales,^d María Cátira Bortolini,^a Víctor Acuña^b y Jorge Alfredo Gómez-Valdés^{c, e}

^a Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

^b Laboratorio de Genética Molecular, Escuela Nacional de Antropología e Historia

^c Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

^d Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,

Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica,

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"

^e Posgrado en Antropología, Universidad Nacional Autónoma de México

RESUMEN

El gen receptor-A de la ectodisplasia (EDAR) es importante en el desarrollo de algunos órganos, especialmente aquellos de origen ectodérmico. Una de las variantes no sinónimas del gen EDAR (V370A, T1540C, rs3827760) es exclusiva de Asia y América, donde alcanzó una alta frecuencia probablemente por selección positiva. Recientemente, el alelo 1540C ha sido asociado a los dientes en forma de pala en grupos humanos de Japón, en los cuales se estimó que describe aproximadamente 19 % de la diversidad fenotípica de este rasgo. En este trabajo estudiamos 91 individuos totonacos no emparentados procedentes de la sierra Norte de Puebla, 53 mestizos de la ciudad de México, con el propósito de reportar las frecuencias genéticas de este polimorfismo. Nuestros resultados muestran diferencias significativas ($p < .01$) de la frecuencia del alelo 1540C entre la población totonaca (.88) y mestiza (.48). Estos resultados son consistentes con las altas frecuencias del alelo 1540C observadas en las poblaciones del noreste asiático y con la frecuencia en las poblaciones nativas de América. Además, hemos observado que los datos no se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg en la población totonaca, lo que sugiere procesos de endogamia en un sector de esta comunidad que se reflejan en estructuras poblacionales. Por

último, se analiza la frecuencia de este polimorfismo y la incidencia del diente en pala para discutir los mecanismos evolutivos de las poblaciones indígenas de América.

PALABRAS CLAVE: EDAR, diente en pala, genética de poblaciones, genética cuantitativa.

ABSTRACT

A-receptor gene of ectodysplasin (WWTP) plays an important role in the development of certain organs, especially those of ectodermal nature. A nonsynonymous variants of WWTP gene (V370A, T1540C, rs3827760) is proprietary to Asia and America, where it likely reached a high frequency by positive selection. 1540C allele has recently been linked to the shovel-shaped teeth in human groups of Japan, where it was estimated that approximately 19 % of the population describes the phenotypic diversity of this trait. We studied 91 unrelated individuals from Totonac in the Sierra Norte de Puebla, as well as 53 mestizos of Mexico City, with the purpose to report gene frequencies of this polymorphism. Our results show significant differences ($p < .01$) of the 1540C allele frequency in the Totonac (.88) and mixed population (.48). These results are consistent with the higher 1540C allele frequencies observed in Northeast Asian populations and frequency in Native American populations. Moreover, we noted that the data are not in Hardy-Weinberg equilibrium in the Totonac population, suggesting inbreeding process in a sector of the community as reflected in population structures. Finally we analyze the frequency of this polymorphism and the incidence of shovel-shaped teeth to discuss the evolutionary mechanisms of indigenous peoples of America.

KEYWORDS: WWTP, tooth blade, population genetics, quantitative genetics.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el análisis de larga escala en la diversidad genómica de los humanos ha detectado variaciones genéticas altamente diferenciadas entre poblaciones y encontrado genes candidatos para determinados fenotipos de manera específica-poblacional (Kimura *et al.* 2009).

En genética de poblaciones, la utilización de variaciones que afectan una sola base en la secuencia de ADN, llamados SNP (por sus siglas en inglés, Single Nucleotide Polymorphism) es fundamental en los estudios de microevolución, dado que sus frecuencias se conservan sin cambios drásticos a lo largo del tiempo.

Una de las variantes no sinónimas-derivadas predominantes en las poblaciones del este de Asia es el polimorfismo rs3827760 (T1540C) del gen del receptor-A de la ectodisplasia (EDAR, Ectodysplasin-A receptor). En humanos las mutaciones disfuncionales en dicho gen se consideran responsables de la displasia ectodérmica hipohidrótica (van der Hout *et al.* 2008; Kimura *et al.* 2009).

Modelos animales han permitido encontrar que los genes de la familia EDAR regulan el desarrollo de algunos órganos, especialmente los de origen ectodérmico, como: cabello, glándulas, uñas, dientes y escamas. Además, en poblaciones de Asia han sido considerados como genes candidatos asociados al grosor del cabello (Fujimoto *et al.* 2008) y de los dientes en forma de pala (Kimura *et al.* 2009).

Los estudios sobre la composición genética de los rasgos dentales fueron desarrollados principalmente a partir de investigaciones con gemelos monocigóticos, de segregación en familias y del cálculo de sus valores de heredabilidad poblacional (Scott y Turner 1997; Hanihara 2008). Así, se entendió que los caracteres morfológicos dentales presentan un alto control génico; no obstante, hasta hace poco se carecía de información directa sobre la distribución de polimorfismos genéticos de estos rasgos morfológicos.

En la actualidad se sabe que los dientes anteriores (premolares, caninos e incisivos) pueden presentar crestas en las posiciones mesial y distal de la superficie lingual, lo que Hrdlicka (1920) denominó “diente en forma de pala”. El grado de expresión de este rasgo varía entre las piezas dentales, de tal manera que es más acentuada en los incisivos superiores, mientras que en los incisivos laterales se manifiesta en grado más pronunciado.

Este mismo autor consideró este rasgo como la forma más característica de la dentición en los indígenas americanos. Trabajos recientes (Pompa y Padilla 1990; Scott y Turner 1997; Cucina *et al.* 2005; Sutter 2005; Hanihara 2008; Gómez-Valdés *et al.* 2007) han verificado una alta incidencia de dientes con forma de pala, documentando una presencia de entre 80 y 100 % en diferentes grupos de Norte, Meso y Suramérica.

Con el propósito de aportar información para comprender la distribución de este polimorfismo en los grupos indígenas de América, se describe la frecuencia del alelo 1540C en dos poblaciones de México: una indígena totonaca y otra mestiza. Consideramos que la comprensión de la distribución del polimorfismo EDAR T1540C permite entender mejor

las altas frecuencias del carácter morfológico “diente en forma de pala”, así como los mecanismos históricos (microevolutivos) que hacen que en las poblaciones indígenas de América este carácter alcance una incidencia tan elevada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 91 individuos totonacos no emparentados procedentes del municipio Tepango de Rodríguez de la sierra Norte de Puebla, además se analizaron 53 individuos mestizos de la ciudad de México con el propósito de reportar sus frecuencias genéticas del polimorfismo. La aprobación ética para llevar a cabo este estudio se encuentra dada por las Comisiones de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (Proyecto número 008-2010).

Para la extracción de ADN se utilizó un estuche comercial de *QIAgen*, se determinaron las concentraciones de cada una de las muestras y su pureza. Todas las muestras cumplieron con los rangos requeridos (concentración ≥ 100 ng/ μ l; A260/230: 1.80), y posteriormente se diluyeron a 10 ng/ μ l, concentración necesaria para un óptimo resultado en la reacción PCR en tiempo real.

Para fines de este estudio se solicitó una sonda *TaqMan-assays* prediseñada (Applied Biosystems), número de catálogo C_27497202_10 basada en el SNP T/C encontrado en el gen EDAR número de referencia rs3827760, y que permite explicar 18.9 % de la variabilidad de la morfología de los dientes con forma de pala (Kimura *et al.* 2009). Las frecuencias genotípicas y alélicas se calcularon y se evaluó el equilibrio Hardy-Weinberg (HW) con el propósito de estimar la composición genética de las poblaciones.

Con base en la información albergada en *The ALlele FREquency Database* (Osier *et al.* 2002; Rajeevan *et al.* 2003; <<http://alfred.med.yale.edu>>) y *HapMap project* (<<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>>), se han obtenido las frecuencias alélicas del SNP rs3827760 para diferentes grupos de la población mundial.

Respecto a la medición del carácter fenotípico bajo estudio, se evaluó visualmente el grado de diente en pala *in situ* y se cuantificó de acuerdo con los criterios establecidos por Turner *et al.* (1991). De esta manera, cuando la superficie lingual de los incisivos centrales superiores (diente

focal) es esencialmente plana (grado 0) o se presentan muy ligeras elevaciones de los márgenes mesial y distal de la superficie lingual (grado 1) se considera ausencia del carácter; mientras que cuando las elevaciones son fáciles de observar (grado 2), crestas marcadas (grado 3), convergen (grado 4) o están en intercontacto con la altura del cúngulo (grado 5 y 6) el rasgo de diente en forma de pala se toma en cuenta como presente (Turner *et al.* 1991).

Para tener un panorama de la distribución de la frecuencia del diente en pala, se compararon gráficamente las frecuencias de este rasgo en diversas agrupaciones humanas.

RESULTADOS

El alelo derivado 1540C (rs3827760) muestra una alta frecuencia en la población totonaca de Tepango de Rodríguez, Puebla (.8791), acorde con lo que se ha observado en otras etnias de América, como cheyenes del sur de los Estados Unidos de Norteamérica (.9550), pimas de Sonora (.9900) y mayas de Yucatán (.7860). La población mestiza de la ciudad de México presenta una frecuencia intermedia (.4811) (figura 1).

En los totonacos de Tepango, se observó que el alelo no cumple con el supuesto de equilibrio HW ($\chi^2 = 6.94$, $p < .01$), lo cual puede ser producto de los procesos de endogamia en un sector de esta comunidad que se reflejan en estructuras poblacionales. Macín (2011) menciona que esta ciudad fue conquistada por los aztecas en la época prehispánica, y la alianza de los totonacos para derrocar al estado mexica durante la conquista quizá dio anuencias para que este grupo pudiera mantener parte de su estructura y organización social hasta nuestros días.

En la población mestiza cuando los genotipos del rs3827760 son contrastados de acuerdo con el grado de diente en forma de pala, se presentan algunos ejemplos que poseen el alelo derivado 1540C, sin expresar el rasgo dental (grados 0-1). A su vez, es posible identificar numerosos casos que presentan el rasgo dental a pesar de que el alelo derivado es poco frecuente; incluso en los grados donde el rasgo morfológico está bien marcado (grados 2-4). Mientras tanto, en la población indígena el alelo derivado 1540C es altamente frecuente a lo largo de toda la distribución del rasgo morfológico, siendo su distribución modal el grado 3 de diente

en pala. Esto puede ser compatible con un modelo de herencia aditiva, considerando que en las dos poblaciones el genotipo homocigoto para el alelo derivado 1540C presenta en promedio un grado más marcado de diente en forma de pala, siendo este valor promedio de 3.73 en el caso de los totonacos de Tepango y de 2.90 en los mestizos de la ciudad de México (figura 2).

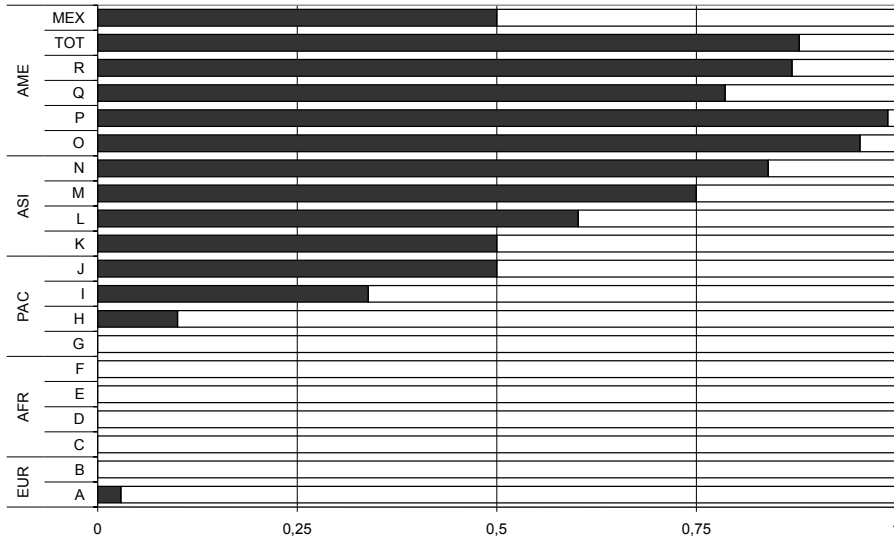


Figura 1. Frecuencia del htSNPs rs3827760 para las principales poblaciones humanas. Datos agrupados de acuerdo con el continente geográfico. A = finlandeses, B = irlandeses, C = beduinos, D = Mandinka, E = nigerianos/Tanzania, F = bosquimanos, G = Nueva Guinea, H = Islas Salomón, I = Indonesios, J = micronesios, K = Khantay, L = japoneses, M = mongoles, N = Yakut, O = cheyenes, P = pimas, Q = amerindios, R = quechuas, TOT* = totonacos y MEX* = mestizos ciudad de México (* este estudio). En color negro se muestra la frecuencia del alelo derivado EDAR 1540C (rs3827760). Datos basados en la base de datos *ALFRED*.

La distribución de frecuencias para el grado de dientes en pala de los incisivos superiores en la población de totonacos de Tepango (figura 2) sugiere que es un rasgo morfológico polimórfico. No obstante, la presencia (dicotómica) del carácter alcanza frecuencias de 100 % en muchas poblaciones indígenas de América (figura 3). En otras palabras, la distribución completa de la expresión de diente en forma de pala en

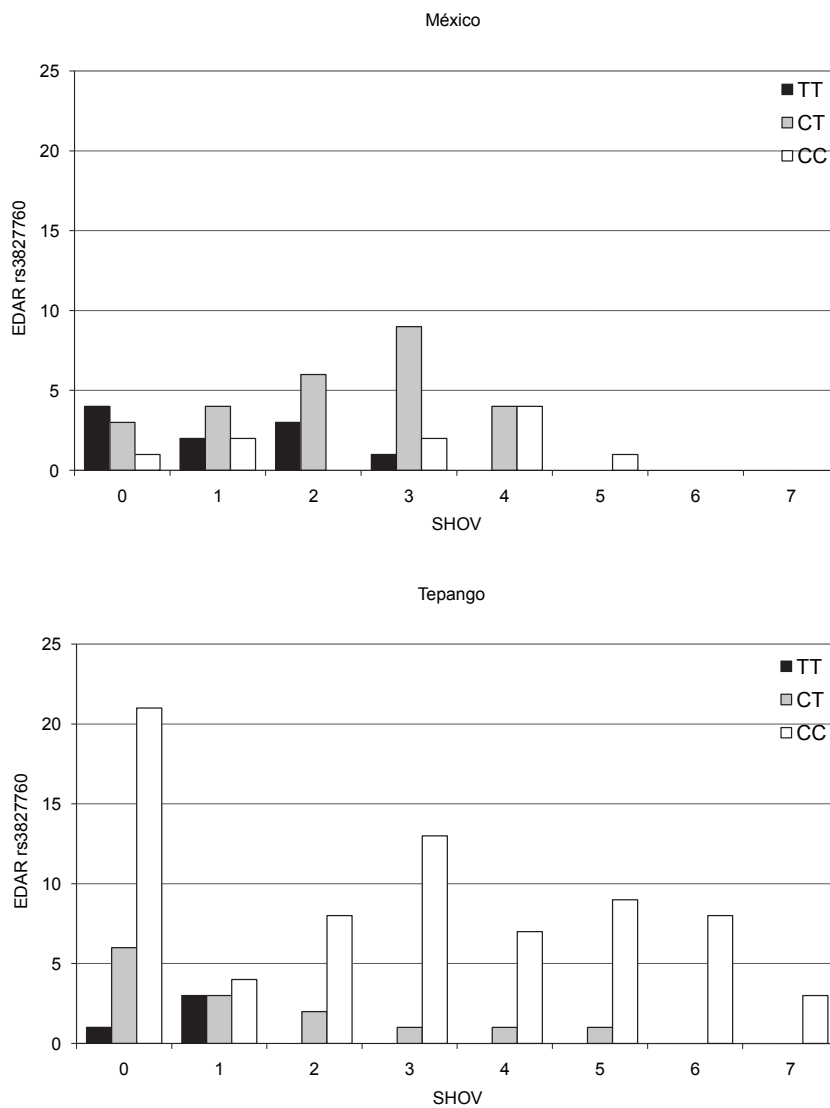


Figura 2. Distribución de la graduación de los dientes en forma de pala (SHOV) en correspondencia con cada genotipo. Valor promedio del grado de diente en forma de pala en la población mestiza de la ciudad de México TT = 1.10, CT = 2.27, CC = 2.90. Valor promedio del grado de diente en forma de pala en totonacos de Tepango de Rodríguez, Puebla TT = 1.00, CT = 2.43, CC = 3.73.

los indígenas de América se ha desplazado hacia los valores superiores del umbral, donde todos los individuos exhiben el fenotipo. Cuando se evalúa en una escala discontinua, la distribución de este rasgo en indígenas de América es efectivamente normal, soportando la idea de que la base genética subyacente de tales rasgos morfológicos en realidad es continua, igual que ocurre con otros caracteres poligénicos con modos complejos de herencia (Scout y Turner 1997).

En la figura 3 se observa que las altas frecuencias del rasgo de diente en forma de pala se corresponde con la distribución geográfica del alelo derivado del gen EDAR 1540C (rs3827760), siendo el norte de Asia y América las que presentan las mayores frecuencias.

Para el caso de poblaciones indígenas que vivieron antes del desbordamiento hispánico hacia América en el siglo XVI, la frecuencia de diente con forma de pala en los incisivos superiores se ha reportado entre 95 y 100 % de presencia (Pompa y Padilla 1990; Scott y Turner 1997; Cucina *et al.* 2005; Sutter 2005; Hanihara 2008; Gómez-Valdés *et al.* 2007).

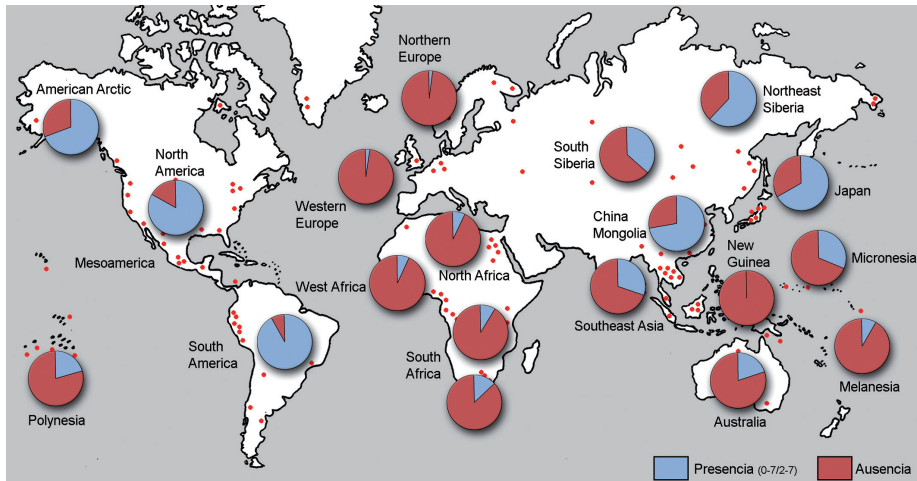


Figura 3. Distribución geográfica del carácter diente en forma de pala de los incisivos centrales superiores. Total de casos $n = 4890$. La presencia para cada región o agrupación geográfica corresponde al promedio ponderado de la frecuencia del carácter posterior a la dicotomía diente focal/grado (DAS/ASU). Con base en Scott y Turner 1997; Gómez-Valdés *et al.* 2007 y el presente estudio.

CONSIDERACIONES FINALES

La distribución de los dientes con forma de pala entre los totonacos de Tepango de Rodríguez, Puebla, corresponde a la observada en amerindios del sur de Norteamérica que presentan bajo o nulo mestizaje (Scott y Turner 1997).

Entre la población mestiza de la ciudad de México esta distribución es considerablemente diferente. No obstante, la frecuencia acumulativa posterior a la dicotomía (diente focal/punto de corte) demuestra alta frecuencia del rasgo (aproximadamente 87 %).

Es posible interpretar la falta de equilibrio HW en las frecuencias alélicas del gen EDAR en totonacos debido a subestructuras poblacionales. La alta frecuencia y sesgo hacia los grados mayores de diente en pala en totonacos puede ser explicado por la alta penetrancia y expresividad de los caracteres. Kimura *et al.* (2009) han reportado efecto aditivo del alelo derivado en poblaciones de Japón. El presente estudio soporta dicha idea, observando un incremento del grado de pala en dirección del alelo derivado 1540C.

En la presente comunicación se ha corroborado una clina geográfica en la frecuencia de los dientes en forma de pala y en la frecuencia alélica del gen EDAR, quedando el alelo derivado restringido a las poblaciones asiáticas y amerindias, donde las frecuencias se incrementan hacia el norte.

Diversas explicaciones se han dado al respecto de la alta incidencia de diente en pala en estas poblaciones, principalmente asegurando un efecto de selección natural sobre los polimorfismos de EDAR que disminuyen en su variabilidad (Sabeti *et al.* 2007).

Kimura *et al.* (2009) hablan sobre huellas de selección natural, quizá debidas a actividades paramasticatorias, esta idea de igual manera ha sido sostenida por Scott y Turner desde 1997.

Trabajos previos han demostrado un efecto de EDAR sobre el grosor del cabello en población asiática (Sabeti *et al.* 2007), lo cual permite suponer un efecto de selección positiva sobre la morfología del cabello, y que las crestas mesiales y distales de los incisivos corresponden a un producto indirecto de dicha presión (Kimura *et al.* 2009).

Al observar los patrones clinales de variación de los polimorfismos genéticos de EDAR relacionados con los dientes en pala, grosor del cabello y glándulas de la sudoración, nosotros consideramos este último como

el fenotipo candidato sobre el cual un efecto de selección podría verse acentuado en climas fríos.

En el presente análisis se ha observado cierta correlación entre la distribución de frecuencias alélicas y la incidencia de diente en pala a gran escala geográfica, lo anterior puede permitirnos conocer mejor la composición genética de los caracteres morfológicos dentales y la inferencia en poblaciones antiguas de América.

Queda por llevar a cabo el estudio de la composición de la varianza (dentro y entre grupos), además de analizar la correlación con otros polimorfismos genéticos que bien podrían explicar la huella de selección que se observa en el gen EDAR.

REFERENCIAS

- CUCINA, A., V. TIESLER Y G. WROBEL
 2005 Afinidades biológicas y dinámicas poblacionales mayas desde el Preclásico hasta el periodo colonial, *Los Investigadores de la Cultura Maya*, 13 (2): 559-567.
- FUJIMOTO, A., R. KIMURA, J. OHASHI, K. OMI, R. YULIWULANDARI, L. BATUBARA, M. S. MUSTOFA, U. SAMAKKARN, W. SETTHEETHAM-ISHIDA, T. ISHIDA, Y. MORISHITA, T. FURUSAWA, M. NAKAZAWA, R. OHTSUKA Y K. TOKUNAGA
 2008 A scan for genetic determinants of human hair morphology: EDAR is associated with Asian hair thickness, *Human Molecular Genetics*, 15 (6): 835-843.
- GÓMEZ-VALDÉS, J. A., J. BAUTISTA, J. A. POMPAYPADILLA, A. TALAVERAY J. CASTREJÓN
 2007 Genetic continuity of west and nuclear mesoamerican populations, *International Journal of Dental Anthropology*, 11: 16-24.
- HANIHARA, T.
 2008 Morphological variation of major human populations based on nonmetric dental traits, *American Journal of Physical Anthropology*, 136: 169-182.
- HOULE, D., D. GOVINDARAJU Y S. OMHOLT
 2010 Phenomics: The next challenge, *Nature Reviews Genetics*, 11: 855-866.

- HRDLICKA, A.
1920 Shovel-shaped teeth, *American Journal of Physical Anthropology*, 3: 429-465.
- KIMURA, R., T. YAMAGUCHI, M. TAKEDA, O. KONDO, T. TOMA, K. HANEJI, T. HANIHARA, H. MATSUKUSA, S. KAWAMURA, K. MAKI, M. OSAWA, H. ISHIDA Y H. OOTA
2009 A common variation in EDAR is a genetic determinant of shovel-shaped incisors, *The American Journal of Human Genetics*, 85: 528-535.
- MACIN, G.
2011 *La relación hombre-ritual-naturaleza en una comunidad totonaca de la Sierra Norte de Puebla: la fiesta del arcángel San Miguel en Tepango de Rodríguez*, tesis, Escuela Nacional de Antropología e Historia, México.
- OSIER, M. V., K. H. CHEUNG, J. R. KIDD, A. J. PAKSTIS, P. L. MILLER Y K. K. KIDD
2002 ALFRED: an allele frequency database for Anthropology, *American Journal of Physical Anthropology*, 119: 77-83.
- POMPA Y PADILLA, J. A.
1990 *Antropología dental: aplicación en poblaciones prehispánicas*, Instituto Nacional de Antropología e Historia (Colección Científica, 195), México.
- RAJEEVAN, H., M. V. OSIER, K. H. CHEUNG, H. DENG, L. DRUSKIN, R. HEINZEN, J. R. KIDD, S. STEIN, A. J. PAKSTIS, N. P. TOSCHES, C. C. YEH, P. L. MILLER Y K. K. KIDD
2003 ALFRED the ALlele FREquency Database update, *Nucleic Acids Research*, 31 (1): 270-271.
- SABETI, P., P. VARILLY, B. FRY, J. LOHMUELLER, E. HOSTETTER, C. COTSAPAS, X. XIE, E. H. BYRNE, S. A. MCCARROLL, R. GAUDET, S. F. SCHAFFNER, E. S. LANDER Y THE INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM
2007 Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations, *Nature*, 449: 913-919.
- SCOTT, G. R. Y C. G. TURNER
1997 *The anthropology of modern human teeth: Dental morphology and its variation in recent human populations*, Cambridge University Press, Nueva York.
- SUTTER, R. C.
2005 The prehistoric peopling of the South America as inferred from genetically controlled dental traits, *Andean Past*, 7: 183-217.

THE INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM

2003 The International HapMap Project, *Nature*, 426: 789-796.

TURNER, C. G., C. NICHOL Y R. SCOTT

1991 Scoring procedures for key morphological traits of the permanent dentition: The Arizona State University dental anthropology system, M. Kelly y C. Larsen (eds.), *Advances in Dental Anthropology*, Wiley-Liss, Nueva York: 13-31.

VAN DER HOUT, A. H., G. G. OUDESLUIJS, A. VENEMA, J. B. VERHEIJ, B. G. MOL, P. RUMP, H. G. BRUNNER, Y. J. VOS Y A. J. VAN ESSEN

2008 Mutation screening of the Ectodysplasin-A receptor gene EDAR in hypohidrotic ectodermal dysplasia, *European Journal of Human Genetics*, 16 (6): 673-679.