



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
POSGRADO EN ANTROPOLOGÍA
FACULTAD DE FILOSOFÍA Y LETRAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ANTROPOLÓGICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOCIALES
CENTRO DE INVESTIGACIONES MULTIDISCIPLINARIAS SOBRE CHIAPAS Y LA
FRONTERA SUR

**Variantes en el gen receptor de la hormona del crecimiento (GHR) y su asociación
con la morfología craneofacial en población mestiza e indígena de México**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN ANTROPOLOGIA

PRESENTA:
Miguel Angel Contreras Sieck

DIRECTOR
Dr. Jorge Alfredo Gómez Valdés
Posgrado en Antropología Física, ENAH

CIUDAD DE MÉXICO ABRIL DE 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis abuelos

Maria Asunción García Vargas †

Lidia Marín López †

Julio Sieck Flandes †

Artemio Contreras Muñoz †

Por darme la familia a la que pertenezco y tanto quiero

Que en paz descansen.

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, quiero agradecer al Posgrado en Antropología de la Universidad Nacional Autónoma de México y al CONACYT por otorgarme la beca con la cual me fue posible llevar a cabo esta investigación.

En segundo lugar, a la Dra. Tábita Hünemeier quien actualmente labora en el Departamento de Genética e Biología Evolutiva (IB), São Paulo, Brasil y anteriormente en el Departamento de Genética, Instituto de Biociencias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, por el apoyo en realizar la genotipificación de los cinco polimorfismos del gen GHR analizados en esta investigación.

A las y los participantes de esta investigación en el municipio de Tepango de Rodríguez, Puebla y en la Ciudad de México por su generosa paciencia durante el protocolo de landmarking al igual que al donar su valiosa muestra de sangre con las cuales esta investigación se pudo realizar.

Este trabajo de investigación fue un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente me apoyaron muchas personas brindándome opiniones, comentarios, correcciones, palabras de ánimo y consejos que fomentaron y nutrieron este proceso de aprendizaje e investigación. A todas y cada una de esas personas les estoy infinitamente agradecido por el tiempo que me brindaron y las palabras que me otorgaron.

En primer lugar, al Dr. Jorge A. Gómez Valdés, gracias por darme la oportunidad y confianza de trabajar a tu lado y de tener la oportunidad de aprender de tus enseñanzas, experiencia y puntos de vista. Mi más sincero agradecimiento por tu interés, paciencia, enseñanza y guía durante este trayecto.

Al Dr. Mirsha Emmanuel Quinto Sánchez por tu tiempo y paciencia en enseñarme Morfometría Geométrica y como navegar el *MorphoJ* y apoyarme durante el proceso de análisis de esta investigación.

A Víctor Acuña Alonzo, gracias por permitirme seguir siendo parte de tu grupo de investigación en la ENAH y continuamente darme oportunidades para crecer académicamente y personalmente. Estoy profundamente agradecido por tu

continua confianza, consejos, guía y perspectivas. Muchas gracias por tu amistad y por ayudarme siempre a crecer.

A mis queridos amigos de la ENAH, a Martha Lucia Granados Riveros, Violeta Alejandra Tovar, Diana Rogel, Alfonso Chamorro, Irina Ortega y Francisco de Ávila gracias por todos los buenos momentos que he pasado a su lado, por el tiempo que me dieron, las conversaciones, las risas, el respaldo y la amistad. Un especial agradecimiento a mis amigos de la prepa. A Andrés, Luis Mario, Paola Elean, Mariana Fuentes, German, Víctor y Rodrigo. Gracias pandilla por los buenos momentos que en estos años hemos compartido. Que nunca nos falten las quecas. A mi querida amiga Adriana Ciraní Zamora Herrera, muchas gracias por todos los momentos que hemos compartido a lo largo del tiempo que hemos sido amigos, atesoro tu amistad.

A las personas que conforman el grupo de investigación del Laboratorio de Genética Molecular de la ENAH. A Gastón Macín Pérez por tu una gran amistad llena de confianza y risas, pero sobre todo por todos esos momentos en que tu apoyo y consejos me han ayudado. A Mónica Ballesteros, gracias por todo el ejemplo, apoyo y consejos que me has dado desde que nos conocemos, pero sobre todo gracias por nunca dudar y siempre tener palabras de aliento, eres una gran amiga. A Paola Everardo Martínez, gracias por los años de amistad, los momentos que hemos compartido, el crecer como antropólogos, pero también como personas.

A las y los tesitas y becarios que han estado en los últimos años en el laboratorio. A Hanna Ruth Pacheco Ubaldo, Daniela Sandoval Morales, Arumi Metzner Castellanos Mendoza, Claudia Quiroz López, Alejandro Alvarado González, Paloma Constanza Huerta Chávez, me da mucho gusto y orgullo saber que ustedes pronto serán grandes antropólogas y antropólogos.

A Cris Viall por acompañarme en el último tramo de este proceso. Aunque nuestros caminos tomaron rumbos diferentes te estoy agradecido por los momentos que hemos vivido juntos y por ser la razón de que Suricata este en mi vida, yo te agradezco mucho todo eso.

A mi hermana Alejandra Contreras Sieck a quien quiero incondicionalmente y admiro infinitamente.

Por último, este trabajo no hubiera sido posible sin el incondicional y constante apoyo de mis padres. Gracias por nunca perder la fe en mí. Su apoyo ha sido sin duda mi más grande motivación por seguir adelante y ser mejor.

A todos ustedes, les agradezco el apoyo y tienen mi infinita gratitud.

Índice

Índice de Figuras.....	8
Índice de Tablas.....	15
Introducción.....	17
Pregunta de investigación.....	25
Objetivo general.....	25
Objetivos específicos.....	25
Hipótesis.....	26
Capítulo I. Una perspectiva evolutiva al estudio del cráneo humano.....	27
1.1 El estudio craneométrico en poblaciones humanas.....	30
1.2 Aproximaciones cuantitativas y evolutivas a la variación craneofacial.....	35
1.3 Variación craneofacial y adaptaciones climáticas.....	38
1.4 Variación craneofacial y adaptación por dieta.....	41
1.5 Abordando la complejidad craneofacial mediante estudios de modularidad.....	47
1.6 Modularidad e integración morfológica.....	52
1.7 Integración Morfológica y Modularidad en primates y humanos.....	60
Capítulo II. El estudio del componente genético craneofacial.....	68
2.1 Estudios de asociación a nivel del genoma.....	71
2.2 El gen receptor de la hormona del crecimiento (GHR).....	75
2.3 Variantes del gen GHR y su asociación con la morfología craneofacial.....	82
Capítulo III. Materiales y Metodología.....	97
3.1 La muestra.....	99
3.2 Obtención de ADN y genotipificación de los alelos.....	100
3.3 Obtención de las medidas craneofaciales.....	101
3.4 Análisis de morfometría geométrica.....	102

3.5 Construcción de hipótesis de módulos.....	107
3.6 Hipótesis de modularidad y patrones de Integración morfológica.....	110
Capítulo IV. Resultados.....	113
4.1 Estadística descriptiva	113
4.2 Patrones de variación morfológica	117
4.2.1 Variación en la hipótesis de modulo neurocraneal.....	122
4.2.2 Variación en la hipótesis de modulo facial	125
4.2.3 Variación en la hipótesis de modulo mandibular.....	129
4.3 Análisis de mínimos cuadrados parciales	134
4.3.1 Análisis de mínimos cuadrados parciales ente el módulo Facial y el Neurocraneal	135
4.3.2 Análisis de mínimos cuadrados parciales entre el módulo Neurocraneal-y el módulo Mandibular.....	140
4.3.3 Análisis de mínimos cuadrados parciales entre el módulo Facial-Mandibular	145
4.3.4 Cálculo del espacio integrado entre los módulos Facial y Mandibular .	149
4.3.5 Análisis de mínimos cuadrados parciales por genotipos.....	151
Capítulo V. Discusión	163
Conclusiones.....	185
Bibliografía	186

Índice de Figuras

Figura 1. Contribución de las células de la cresta neural al esqueleto craneofacial (Chai, 2015).....	28
Figura 2. Vista frontal, lateral e inferior de un cráneo humano que muestra las dimensiones craneales con mayor heredabilidad. Los colores indican las dimensiones de las regiones facial (roja), neurocraneal (verde) y básica (azul). Las dimensiones interregionales se representan en negro (Martínez-Abadías <i>et al.</i> , 2009a).	33
Figura 3. Regiones craneofaciales que se ajustan a un modelo evolutivo neutral (azul) respecto a las regiones que se alejan de las predicciones de neutralidad en relación con todo el cráneo (en blanco), en gris regiones informativas para reconstruir la historia poblacional.	34
Figura 4. Muestra global de cráneos de sexo masculino (negro) y femenino (blanco) y ambos sexos (gris) graficado en un mapa de calor contra las tendencias de; máxima temperatura (arriba), mínima (en medio) y precipitación (abajo) (Betti <i>et al.</i> , 2010).	39
Figura 5. Gráfica de componentes principales para todo el cráneo y todas las regiones estudiadas que representan la magnitud de diferencias de forma entre poblaciones humanas con diferentes estrategias de dieta(Paschetta <i>et al.</i> , 2010).	43
Fig. 6. Cambios de forma asociados a diferencias en estrategias de subsistencia (von Cramon-Taubadel, 2011).	46
Figura 7. Módulos craneales derivados de la cresta neural versus derivadas del mesodérmico en vista lateral(Liberman, 2011).....	48
Figura 8. Secuencia temporal de maduración esquelética propuesta por Enlow (1990). El neurocráneo madura junto con el cerebro y la base del cráneo en la línea media mientras que el rostro y los elementos asociados maduran más tarde, por lo que se ha sugerido que el desarrollo de la base craneal limita el del rostro.	49

Fig. 9. Unidades esqueléticas asociadas a la matriz 'orofacial'. (Cheverud, 1982).	51
Figura 10. Diferentes niveles de integración y modularidad según Klingenberg (2014).	55
Figura 11. Tipos de modularidad vinculadas a la variación morfológica y su conexión entre ellas. La modularidad del desarrollo, genética y funcional resulta de procesos dentro de individuos y poblaciones (líneas grises) mientras que la modularidad evolutiva resulta de divergencias evolutivas entre linajes en un clado (diagrama naranja). Las líneas azules representan influencias mutuas entre tipos de modularidad dentro de individuos y las rojas dentro de poblaciones	58
Figura 12. Módulos de esqueleto craneofacial basados en análisis de redes anatómicas. Complejo craneal (rojo), complejo facial (azul) y complejo tiroideo (verde)(Esteve-Altava <i>et al.</i> , 2015).	60
Figura 13. Conectividad de módulos identificada en cráneos de <i>Hylobates</i> y grandes simios. Se observa una gran variabilidad en los huesos que componen los tres módulos en este grupo (rojo, azul y verde). El cráneo humano muestra una división de dos módulos (facial y craneal) único dentro de los primates.	66
Figura 14. Las fuentes de información para investigar la etiología genética de la variación craneofacial (modificado de Claes <i>et al.</i> , 2016).	69
Figura 15. Esquema de un estudio de asociación a nivel del genoma (gwas). Diseño basado en miles de SNPs (A) analizados en casos y controles (B) con el fin de establecer asociaciones estadísticamente significativas entre fenotipos y genotipos (C).	72
Figura 16. Genes asociados a regiones faciales particulares en poblaciones con morfología normal (Richmond <i>et al.</i> , 2018).	73
Figura 17. Contexto genómico del gen GHR (modificado de la página NCBI-gene).	76
Figura 18. Esquema de la regulación de la secreción de la hormona del crecimiento (GH) y los genes y tejidos involucrados (Chaves <i>et al.</i> , 2013).	78

Figura 19. El eje GH-IFG-1 y su papel en distintos órganos (Dekhoda <i>et al.</i> , 2018).	79
Figura 20. Características craneofaciales asociadas a estatura baja, independientemente del desorden de origen lo que sugiere una complejidad en el patrón y magnitud de crecimiento debido a síndromes asociados con mutaciones o deficiencia del gen GHR(Wójcik and Beń-Skowronek, 2020)......	81
Figura 21. Mapa mundial de las frecuencias alélicas de los polimorfismos rs6180, rs6183 y rs6184 del gen GHR en las poblaciones muestreadas en 1000 genomas. Las gráficas de pastel se encuentran en la ubicación geográfica de las muestras analizadas.	84
Figura 22. Medidas en cefalogramas laterales estudiadas por Zhou y colaboradores (2005) y subsecuentemente replicadas por Tomoyasu (2009)......	86
Figura 23. Mapa mundial de la frecuencia alélica del polimorfismo rs6182 del gen GHR en las poblaciones muestreadas en 1000 genomas. Las gráficas de pastel se encuentran en la ubicación geográfica de las muestras analizadas.....	87
Figura 24. Mapa mundial de la frecuencia alélica del polimorfismo rs6176 del gen GHR en las poblaciones muestreadas en 1000 genomas. Las gráficas de pastel se encuentran en la ubicación geográfica de las muestras analizadas.....	89
Figura 25. Landmarks anatómicos para las medidas mandibulares a partir de imágenes CBCT (<i>Cone Beam Computed Tomography</i> por sus siglas en inglés) (Nakawaki <i>et al.</i> , 2017)......	93
Figura 26. La superposición de Procrustes. Izquierda; las coordenadas en bruto todavía contienen información sobre la posición, orientación y tamaño de los cráneos. En medio; los especímenes se centran para estandarizar la posición. Derecha; los cráneos en la orientación de Procrustes: la posición, la orientación y el tamaño están estandarizados; lo que queda son las diferencias de forma entre estos dos especímenes.	105

Figura 27. Ubicación anterior de los landmarks usados en este estudio. Tomado de “Protocolo para la digitalización de cabeza en 3D mediante Microscribe G2X”, UNAM (Gómez-Valdés y colaboradores, 2010)	107
Figura 28. <i>Wireframes</i> de la configuración general y las cuatro hipótesis de módulos. a) Configuración general (Cabeza) b) Hipótesis mandibular c) Hipótesis facial d) Hipótesis neurocraneal,.....	109
Figura 29. Bloques de ligamiento entre los cuatro polimorfismos del gen GHR..	116
Figura 30. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales de Cabeza (PC1 Y PC2).....	119
Figura 31. Variación del cambio en la forma craneal generalizada asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	120
Figura 32. Análisis de componentes principales de Cráneo total (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.	121
Figura 33. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales del módulo neurocraneal (PC1 Y PC2).....	123
Figura 34. Variación del cambio en la forma de la región neurocraneal asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	124
Figura 35. Análisis de componentes principales de módulo Neurocraneal (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.....	125
Figura 36. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales del módulo facial (PCA1 Y PCA2).	127

Figura 37. Variación del cambio en la forma de la región facial asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	128
Figura 38. Análisis de componentes principales del módulo facial (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.	129
Figura 39. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales del módulo mandibular (PCA1 Y PCA2).	131
Figura 40. Variación del cambio en la forma de la región mandibular asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	132
Figura 41. Análisis de componentes principales del módulo mandibular (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.	133
Figura 42. Gráfico de dispersión del análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial y Neurocraneal (PLS1-1 Y PLS1-2).	136
Figura 43. Variación del cambio en la forma de asociado a las regiones facial (PLS1-1) y neurocraneal (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	137
Figura 44. Variación del cambio en la forma de asociado a las regiones facial (PLS2-1) y neurocraneal (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	138
Figura 45. Análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial (PLS1-1) y Neurocraneal (PLS1-2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.....	139

Figura 46. Gráfico de dispersión del análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Neurocraneal y Mandibular (PLS1-1 Y PLS1-2).	141
Figura 47. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones neurocraneal (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	142
Figura 48. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones neurocraneal (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	143
Figura 49. Análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Neurocraneal (PLS1-1) y Mandibular (PLS1-2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.	144
Figura 50. Gráfico de dispersión del análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial y Mandibular (PLS1 Y PLS2).....	146
Figura 51 . Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	147
Figura 52. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.	148
Figura 53. Análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial (PLS1-1) y Mandibular (PLS1-2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.....	149
Figura 54. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el	

genotipo G/G del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma. 153

Figura 55. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/G del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma. 154

Figura 56. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/T del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma..... 155

Figura 57. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/T del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma..... 156

Figura 58. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo A/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma..... 159

Figura 59. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo A/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma..... 160

Figura 60. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1) y mandibular (PLS2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo C/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma..... 161

Figura 61. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo C/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma..... 162

Índice de Tablas

Tabla 1. Información del efecto de los polimorfismos del gen GHR estudiados....	83
Tabla 2. Características demográficas, variantes analizadas, metodología, medidas y resultados de los estudios de asociación entre morfología craneofacial y variantes del exón 10 del gen GHR.	95
Tabla 3. Composición de la muestra por localidad, etnicidad y sexo.	99
Tabla 4. Protocolo de puntos anatómicos utilizado en este estudio. Puntos obtenidos in situ mediante un Microscribe G2X.....	101
Tabla 5. Landmarks utilizados para caracterizar los módulos Facial, Neurocraneal y Mandibular en el análisis jerarquizado llevado a cabo en el software <i>MorphoJ</i> . .	108
Tabla 6. Muestra final tras los filtros de genotipos y coordenadas de landmarks.	113
Tabla 7. Comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos del gen GHR en la muestra y en las poblaciones americanas en 1000 genomas.	114
Tabla 8. Prueba exacta de Fisher entre la muestra, estudios previos y las poblaciones de América en 1000 genomas.	114
Tabla 9. Genotipos correspondientes a los cinco polimorfismos del gen GHR y los resultados de la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg para los polimorfismos.	115
Tabla 10. Cálculo de los estadísticos de desequilibrio de ligamiento D' y R^2 para los polimorfismos rs6180, rs6182, rs6183 y rs6184.....	116
Tabla 11. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del análisis de componentes principales del Cabeza.....	118
Tabla 12. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del PCA sobre el componente simétrico del módulo neurocraneal... ..	123

Tabla 13. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del PCA sobre el componente simétrico del módulo facial.	126
Tabla 14. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del PCA sobre el componente simétrico del módulo mandibular.....	130
Tabla 15. Resultados del test de modularidad de Klingenberg, (2011). Se presentan datos de los coeficientes RV multi-set, numero de particiones y proporciones. ...	134
Tabla 16. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Neurocraneal.	135
Tabla 17. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Neurocraneal y Mandibular.....	140
Tabla 18. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular.....	145
Tabla 19: Los primeros trece factores comunes significativos (p) extraídos de las dimensiones del análisis PLS.....	150
Tabla 20. Resultados del test de modularidad de Klingenberg, (2011) para los módulos facial y mandibular por genotipos del rs6182. Se presentan datos de los coeficientes RV multi-set, numero de particiones y proporciones.	151
Tabla 21. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo G/G del polimorfismo rs6182.....	152
Tabla 22. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo G/T del polimorfismo rs6182	152
Tabla 23. Resultados del test de modularidad de Klingenberg, (2011) para los módulos facial y mandibular por genotipos del rs6184. Se presentan datos de los coeficientes RV multi-set, numero de particiones y proporciones.	157
Tabla 24. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo A/C del polimorfismo rs6184	157
Tabla 25 Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo C/C del polimorfismo rs6184	158

Introducción

El cráneo humano representa uno de los elementos osteológicos más estudiados por la Antropología Física debido a que dicha estructura ha sido altamente informativa dentro de la historia de la disciplina. En un inicio con aproximaciones descriptivas, transitando por perspectivas comparativas y más recientemente por medio de un marco teórico evolutivo que permite poner a prueba hipótesis macroevolutivas y microevolutivas (Wood and Lonergan, 2008; Liberman, 2011:2). En la actualidad, el cráneo humano no sólo ha permitido llevar a cabo estudios comparativos con otros grandes simios o restos fósiles pertenecientes a miembros de la tribu *Hominini* con el fin de contribuir al entendimiento del complejo proceso de hominización y humanización, también ha permitido estudiar los procesos microevolutivos que ocurrieron posteriormente al surgimiento del *Homo sapiens* hace aproximadamente 300,000 años (Hublin *et al.*, 2017), con un énfasis en el impacto de los eventos posteriores a la salida fuera de África. En particular, cómo los patrones de variación genética y morfológica de las poblaciones humanas fueron influenciados por eventos de aislamiento geográfico producto del poblamiento de los continentes al igual que los complejos procesos adaptativos y culturales que ocurrieron conforme se adentraron en nuevos nichos ecológicos. Dicha perspectiva se ha sustentado bajo un enfoque tanto evolutivo como cuantitativo, el cual retoma las aproximaciones de la cefalometría clásica y la antropometría vinculándolas con nuevas herramientas digitales, como son la fotogrametría y las tomografías computarizadas en tres dimensiones y que en conjunto con metodologías novedosas como la morfometría geométrica permiten la captura y procesamiento

de la morfología para llevar a cabo análisis computacionales multivariados de la variación entre individuos y entre poblaciones. Esta aproximación ha contribuido al análisis de colecciones osteológicas al lograr obtener imágenes, tomografías y modelos en tres dimensiones de individuos de edad prenatal, adolescentes y adultos que han permitido aumentar la resolución de la cuantificación de los fenotipos faciales normales y su variación y variabilidad.

Los resultados de estas investigaciones han abierto la posibilidad de diagnósticos tempranos de malformaciones craneofaciales a través de métodos cuantitativos (Fjørtoft *et al.*, 2007) y por otra parte, mediante el estudio de síndromes congénitos se ha contribuido al esfuerzo de entender la morfogénesis craneofacial y el impacto que la variación genética tiene durante el proceso de crecimiento y desarrollo en la morfología craneofacial normal (Learned-Miller *et al.*, 2006; Hammond, 2007; Wilamowska *et al.*, 2009; Goodwin *et al.*, 2014; Manyama *et al.*, 2014).

Por otra parte, dichos estudios han fomentado la caracterización robusta de fenotipos craneofaciales complejos con el fin de llevar a cabo estudios de asociación genética a nivel del genoma (*Genome-wide association studies* por sus siglas en inglés) que tienen como objetivo, identificar estadísticamente las variantes genéticas y/o los genes del desarrollo que posiblemente están involucrados en la morfogénesis craneofacial y por lo tanto en los distintos síndromes congénitos.

En última instancia, el objetivo general está enfocado en identificar y “mapear” las interacciones entre los genes responsables de lo que se denomina como “las bases genéticas de la morfología craneofacial normal” (Balliu *et al.*, 2014; Crouch *et al.*, 2018) para subsecuentemente abordar la complejidad que dichas redes de

expresión genética presentan durante el proceso de crecimiento y desarrollo craneofacial.

El estudio del componente genético responsable de la morfología craneofacial es de interés debido a la gran importancia del cráneo en el proceso evolutivo humano, las evidencias de variación dentro y entre poblaciones y, por otra parte debido a su contribución al entendimiento de las consecuencias morfológicas y funcionales de los síndromes craneofaciales, los cuales son un importante tema de análisis para la medicina clínica, pero también tienen implicaciones en el ámbito forense en términos de identificación humana y predicción facial basada en datos genéticos.

Ahora bien, en las últimas dos décadas se ha fortalecido una corriente denominada “biología evolutiva del desarrollo” que ha tenido como objetivo profundizar en el estudio de los fenotipos complejos más allá de las asociaciones estadísticas entre variantes genéticas y fenotipos hacia un nivel de teoría y análisis que abarque los distintos niveles de organización que interactúan durante el proceso de crecimiento y desarrollo a través de una interacción dinámica entre rutas de expresión genética, interacciones mecánicas entre tejidos e influencias del ambiente, que en última instancia serán las que darán producto a un fenotipo después de un periodo ontogenético determinado. Bajo esta perspectiva el cráneo humano ha sido repensado por importantes biólogos evolutivos y antropólogos como una estructura que se compone de un conjunto de fenotipos complejos que interactúan a manera de una red integrada y modulada durante el desarrollo ontogenético del individuo.

Dentro de esta perspectiva, *Daniel Lieberman* planteó en el 2011 repensar la hipótesis de la matriz funcional de Melvin Moss (Moss and Young, 1960a; Moss and Rankow, 1968; Moss and Salentijn, 1969a; Moss, 1997) bajo el concepto de

epigenética¹ de Conrad Hal Waddington (1942) y propuso un modelo que plantea a la cabeza humana como un conjunto de órganos que tienen un origen ontogenético inicialmente diferenciado pero conforme se da el proceso de crecimiento y desarrollo de dichos órganos comienzan a compartir porciones traslapadas de la estructura ósea del cráneo, lo cual fomentaría una alta interacción epigenética (teniendo en cuenta que dichas interacciones ocurren a un nivel jerárquico del desarrollo, es decir, a nivel del genoma, entre células, entre tejidos, órganos y por último entre organismos y ambientes) que permitiría tolerar al mismo tiempo altos niveles de variación en los componentes independientes del cráneo, es decir, los dientes que crecen en la mandíbula, los músculos que permiten su movilidad y todos los órganos que permiten el funcionamiento de los sentidos al igual que el desarrollo y mantenimiento del cerebro mediante altos niveles de integración epigenética que en última instancia genera un amplio rango de variación fenotípica heredable que se traduce en altos niveles de *evolucionabilidad*, de hecho el autor señala que esto es claramente evidente en la gran cantidad de diferencias anatómicas entre especies de homínidos que se agrupan en el esqueleto craneofacial respecto del esqueleto poscraneal (Lieberman, 2011b).

La hipótesis de Lieberman postula que la evolucionabilidad del cráneo está basada en la forma en que se integra este conjunto de fenotipos complejos durante su proceso de crecimiento y desarrollo a través de múltiples capas de interacciones epigenéticas que permiten el surgimiento de propiedades emergentes dentro de

¹ El concepto de epigenética según *Waddington* hace referencia; “al vasto conjunto de procesos por los cuales fenotipos alternativos y posiblemente variables, ya sea celulares, anatómicos, fisiológicos o comportamentales, derivan de un genotipo dado” (Haig 2004).

estas llevando así a que la cabeza tolere altos niveles de variación mediante ajustes en múltiples niveles de interacción entre tejidos. En particular, conforme los módulos de la cabeza se desarrollan, crecen y llevan a cabo sus funciones, ellos interactúan directa e indirectamente entre sí para acumular altos niveles de variación sin comprometer la función (Lieberman, 2011b).

La propuesta de Lieberman (2011) sugiere que el estudio de la evolucionabilidad y la naturaleza modular del cráneo se tiene que llevar a cabo considerando al fenotipo como el conjunto de factores genéticos, ambientales, mecánicos y epigenéticos (Gómez-Valdés *et al.*, 2013:12) los cuales se pueden estudiar mediante aproximaciones de estudios de asociación a lo largo del genoma completo (*genome-wide association studies*), estudios de asociación basados en evidencias funcionales en fenotipos normales o a través de genes candidato previamente asociados a síndromes craneofaciales y malformaciones congénitas (Adhikari *et al.*, 2015; Rustagi *et al.*, 2017; Crouch *et al.*, 2018; Schwarze *et al.*, 2018; Weinberg *et al.*, 2018). Considerando estos abordajes resulta mucho más factible analizar genes candidato debido a que han sido asociados a un impacto significativo en el desarrollo de alguna característica fenotípica vinculada con una morfología craneofacial anormal.

Por lo tanto, explorar las variantes genéticas ya reportadas en otras poblaciones y subsecuentemente comparar las frecuencias entre poblaciones y su impacto diferencial en el fenotipo estudiado se vuelve de interés ya que la presencia de variación en frecuencias alélicas podría vincularse a diferencias fenotípicas significativas y, por otra parte, si no existen diferencias en las frecuencias pero si en el fenotipo, también indica la posibilidad de que un componente ambiental o

epigenético podría estar contribuyendo a las diferencias fenotípicas entre poblaciones. En última instancia, utilizando aproximaciones genómicas dichos genes pueden ayudar a identificar las redes genéticas que se vinculan durante el complejo desarrollo craneofacial lo cual contribuirá a la comprensión del complejo mapa genotipo-fenotipo.

En la presente investigación se analizaron cinco polimorfismos (rs6176, rs6180, rs6182, rs6183, rs6184) del gen receptor de la hormona del crecimiento (GHR) debido a que existen trabajos previos que han establecido asociaciones entre dichas variantes genéticas y variación en la morfología del tercio medio inferior craneofacial (Ludwiczak et al., 1996; Yamaguchi et al., 2001a; Zhou et al., 2005; Kang et al., 2009a; Sasaki et al., 2009; Tomoyasu et al., 2009a; b; Del et al., 2017; Nakawaki et al., 2017). Más aun, estas investigaciones han evidenciado que la asociación entre variación en el tercio medio inferior craneofacial y los polimorfismos no es consistente entre las poblaciones estudiadas, lo cual sugiere una complejidad en cuanto a la interacción de la variación del gen GHR en conjunto con factores ambientales, epigenéticos y de historia poblacional. Esta heterogeneidad en las asociaciones reportadas para distintas poblaciones humanas podría indicar un efecto diferenciado de los polimorfismos estudiados posiblemente vinculado a patrones y magnitud de integración morfológica y modularidad del tercio medio e inferior craneofacial. Tomando a consideración que el tercio medio e inferior craneofacial se puede considerar un fenotipo complejo que está mediado por las interacciones de factores genéticos, ambientales, epigenéticos y bioculturales.

En este sentido, el presente trabajo de investigación consistió en analizar la variación morfológica del neurocráneo y el tercio medio e inferior craneofacial con

el fin de investigar el efecto de los genotipos de los cinco polimorfismos del gen receptor de la hormona del crecimiento (GHR) en el patrón y la magnitud de la integración morfológica y modularidad mediante comparaciones entre tres hipótesis de módulos anatómicos (módulo facial, módulo neurocraneal y módulo mandibular) que conforman el esqueleto craneofacial, utilizando aproximaciones de morfometría geométrica basadas en estadísticos multivariados.

Los análisis se llevaron a cabo bajo un enfoque de integración morfológica y modularidad donde las asociaciones entre fenotipo y genotipo están medidas bajo el mapa genotipo-fenotipo que está influenciado dentro del proceso de crecimiento y desarrollo por influencias genéticas, funcionales, ambientales y epigenéticas que de manera conjunta producen el fenotipo a lo largo de la ontogenia (Lieberman, 2011b). En este sentido, la corriente de evolución y desarrollo (*evo-devo*) es fundamental para abordar preguntas respecto a la relación entre la variación del genoma y el origen de la variación fenotípica a través del concepto de mapa genotipo-fenotipo (G-P) que permite modelar cómo los cambios genéticos pueden producir cambios adaptativos a través del efecto modulado de la variación genética respecto al fenotipo. Según *Wagner y Altenberg* (1996) este fenómeno subyacente de la biología evolutiva se ha estudiado en diferentes aspectos como son: disociación en el desarrollo, integración morfológica, constreñimientos del desarrollo, asimetría fluctuante, epistásis, canalización, heterocroma, los QTLs (*quantitative trait loci*) y matrices genéticas de varianza/covarianza, lo cual ha permitido definir y caracterizar las propiedades de variación de los fenotipos, considerando sus efectos en la evolución o las propiedades mismas de la evolución en el cual el mapa genotipo-fenotipo puede ser un marco conceptual para abordar

dichas líneas de investigación (Wagner and Altenberg, 1996a). Es en este punto donde los conceptos de Integración Morfológica y Modularidad son de importancia ya que permiten pensar en la evolucionabilidad del mapa genotipo-fenotipo a través de la producción de variantes adaptativas que actúan sobre el sistema genético a manera de redes de efecto que pueden o no constreñir la dirección de cambio fenotípico ejercido por la variación genética mediante mecanismos de parcialización o interacciones epistáticas. Esta perspectiva se ha planteado a partir del concepto de mapa genotipo-fenotipo modular que puede ser descompuesto en varios mapas genotipo-fenotipo independientes que den cuenta de efectos locales con menor influencia pleiotrópica entre módulos (Hünemeier et al., 2014). Bajo esta perspectiva recientes investigaciones de IM y modularidad en primates y humanos han evidenciado que el esqueleto craneofacial se comporta como dos módulos, el facial y el neurocraneal (Esteve-Altava et al., 2015). Bajo esta perspectiva, en esta investigación se sigue la propuesta de tres hipótesis de módulos, la cual provee un marco robusto para hipótesis de IM y modularidad en la región del tercio medio e inferior craneofacial que estén influenciadas por las variantes del gen GHR bajo la suposición de que dicha influencia está asociada al proceso de crecimiento y desarrollo de los cóndilos mandibulares vía la estimulación de crecimiento cartilaginoso que impacta los patrones y magnitud de IM y modularidad de los módulos facial, mandibular y neurocraneal. Este abordaje permite explorar la influencia de las variantes genéticas del gen GHR previamente asociadas a la morfología mandibular en población mestiza mexicana y así contribuir al entendimiento del papel de los polimorfismos del gen GHR en el mapa genotipo-fenotipo del tercio medio e inferior craneofacial normal al igual que la asociación

entre las variantes y el patrón y la magnitud de integración morfológica y modularidad debido a su efecto en la cascada de señalización que genera los patrones de crecimiento y desarrollo craneofacial y por lo tanto impactan en la covariación dentro y entre los módulos que se hipotetizan en este trabajo.

Pregunta de investigación

Por lo tanto, en esta investigación se planteó la interrogante, ¿Cuál es el efecto de los genotipos de las cinco variantes del exón 10 del gen GHR en los patrones y la magnitud de integración morfológica entre las tres hipótesis de módulos del tercio medio y el tercio inferior craneofacial en población indígena y mestiza de México?

Objetivo general

Investigar el efecto de los genotipos de las cinco variantes genéticas del gen GHR con diferencias en la forma y los patrones e intensidad de integración morfológica y modularidad craneofacial mediante un protocolo de *landmarks* que capturan la morfología craneofacial y análisis multivariados de morfometría geométrica en una población indígena y una mestiza de México bajo un enfoque gen-fenotipo.

Objetivos específicos

1. Describir la variación morfológica del tercio medio y el tercio inferior craneofacial en población indígena y mestiza mexicana y evaluar el efecto asociado de dicha variación con los genotipos de las variantes genéticas previamente reportadas en el gen GHR.

2. Analizar los patrones y magnitud de integración morfológica mediante la comparación de módulos craneofaciales y la posible influencia de los genotipos de los polimorfismos del gen GHR en el patrón y magnitud del tercio medio e inferior craneofacial.

Hipótesis

Debido a la naturaleza integrada del cráneo, los genotipos de los polimorfismos del gen GHR que se han asociado a diferencias en la morfología del tercio medio y del tercio inferior craneofacial se espera que se asocien a diferencias morfológicas en el tercio medio e inferior craneofacial en población indígena y mestiza mexicana debido a los patrones de integración morfológica de los módulos craneofaciales.

Los genotipos de los polimorfismos del gen GHR asociados a diferencias morfológicas en el tercio inferior craneofacial se asociarán a diferencias en el patrón y la magnitud de integración morfológica entre el módulo facial, el módulo mandibular y el módulo neurocraneal de la cabeza.

Capítulo I. Una perspectiva evolutiva al estudio del cráneo humano

El cráneo humano es la estructura ósea que se encuentra por encima de la columna vertebral, siendo la parte más elevada del esqueleto y sostenida por la vértebra atlas. Es uno de los elementos óseos más analizados para estimar el sexo, edad e historia de vida de un individuo (White, Black, & Folkens, 2011). *White y Folkens* (2005) señalan que el cráneo está constituido por 22 elementos pareados y 5 elementos únicos, por otra parte, *Testut y colaboradores* señalan que los veintidós huesos inmóviles se encuentran estructurados en una región neurocraneal y otra viserocraneal (Testut and Latarjet, 1988). Las estructuras que componen al cráneo se pueden describir como: cara anterior (frontal, orbitaria, maxilar, nasal y mandibular), cara superior (arcos superciliares del hueso frontal, arcos cigomáticos, parietales y región bregmática del occipital), cara posterior (huesos parietales y occipital y porción mastoidea de los huesos temporales), cara lateral (frontal, parietal, esfenoides, temporal, nasal, lagrimal, maxilar, etmoides, rama y cuerpo mandibular, meato auditivo, arco cigomático y proceso mastoides) y cara interior (frontal, etmoides, esfenoides temporal y occipital) y exterior (paladar duro, arcada maxilar y diversos forámenes) de la base (Testut and Latarjet, 1988). Este conglomerado de estructuras óseas forma una compleja interacción con el tejido conectivo, muscular y vascular que engloban y protegen al cerebro al igual que a los órganos sensoriales de la misma forma que forman una plataforma de sostén para la cara (Hallgrímsson et al., 2007). En términos ontogenéticos, estos tejidos derivan colectivamente del endodermo, mesodermo, ectodermo y las células de la cresta neural craneal (Figura 1) y sus derivados (Szabo-Rogers et al., 2010) en un

proceso dinámico espacio-temporal que es altamente complejo y susceptible a desregularizaciones, lo cual se evidencia por la alta proporción de defectos congénitos que involucran al cráneo y la cara (Szabo-Rogers *et al.*, 2010).

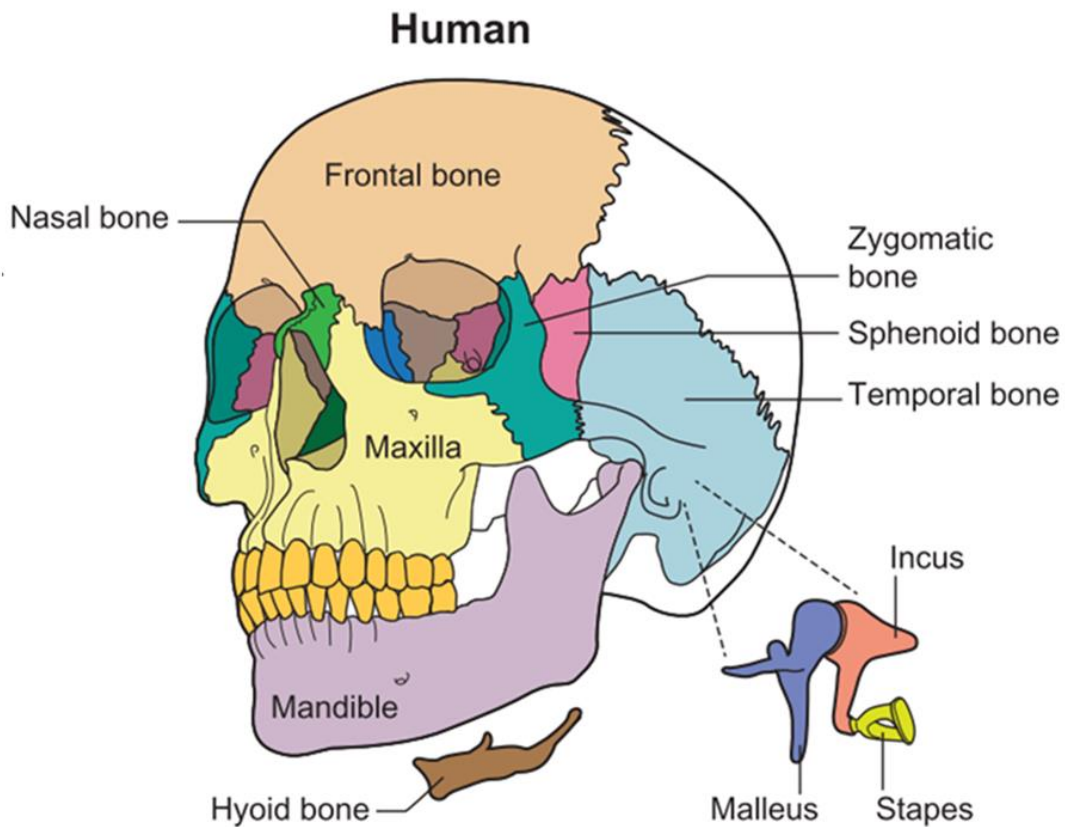


Figura 1. Contribución de las células de la cresta neural al esqueleto craneofacial (Chai, 2015).

Desde un enfoque comparativo con primates encontraremos que el *Homo sapiens* presenta una nariz externa, ausencia de hocico (sin prognatismo), la bóveda craneal es globular y la base craneal está altamente flexionada lo que provoca que el rostro se retraiga debajo de la bóveda craneal casi por completo y por último, tiene mentón (Von Cramon-Taubadel, 2014). En cuanto a cambios en la morfología craneofacial durante el proceso de crecimiento y desarrollo postnatal encontramos que nuestro

rostro crece y cambia significativamente a lo largo de la vida, incluida la adolescencia (Bastir et al., 2006) y la edad adulta (Lande, 1952; Formby et al., 1994), mientras que el crecimiento del tejido facial y blando no siempre es concordante (Subtelny, 1959) y existen claras evidencias de que dicha trayectoria ontogenética sigue un crecimiento distinto al de otros primates no humanos al igual que homínidos (Neubauer et al., 2010).

Este conjunto de rasgos vuelven al cráneo humano una importante fuente de información para estudios filogenéticos y de genética de poblaciones (Strait, 2001; Gonzalez et al., 2003) ya que se pueden poner a prueba hipótesis macroevolutivas, respecto a cuándo, cómo y porque es que surgieron diferenciaciones morfológicas durante el proceso de hominización al igual que hipótesis respecto a la acción de las distintas fuerzas microevolutivas (mutación, deriva genética, flujo genético y selección natural) en la variación dentro y entre poblaciones humanas del presente y el pasado.

Lo anterior es de gran importancia debido a que el cráneo humano no sólo es una estructura con una considerable cantidad de fenotipos derivados respecto de los grandes simios (Pearson, 2000), también participa en una serie de funciones críticas para el ser humano como la cognición, la vocalización, la respiración, la dieta y la termorregulación (Lieberman, 2008). Por otra parte, desde un enfoque microevolutivo, la morfología craneofacial provee información respecto a variación en el tamaño y la forma dentro y entre poblaciones humanas, lo cual permite poner a prueba hipótesis acerca de la morfología funcional (selección natural), las relaciones ancestro-descendencia (cambios debidos a deriva genética), el proceso ontogenético (planteamientos desde la teoría de evolución y desarrollo) al igual que

el impacto del mestizaje reciente entre poblaciones (flujo genético). Dichas aproximaciones se sustentan en el marco teórico de la genética cuantitativa que deriva de los postulados clásicos de la genética de poblaciones y que fue desarrollado específicamente para abordar rasgos fenotípicos continuos (Von Cramon-Taubadel, 2014).

Desde la perspectiva microevolutiva, como ya se mencionó anteriormente, el estudio poblacional de la variación craneofacial humana ha sido un tema central para la antropología física, y en el caso de este abordaje en México, es solo en las últimas décadas que se ha realizado desde una aproximación cuantitativa y evolutiva, aun es más reciente la incorporación de perspectivas del paradigma de evolución y desarrollo (Evo-Devo) al entendimiento de este conjunto de fenotipos complejos.

1.1 El estudio craneométrico en poblaciones humanas

Como ya se mencionó, el cráneo humano siempre ha sido de gran interés para la antropología y durante la década de 1940 una serie de investigaciones se enfocaron en el estudio de la morfología craneofacial normal, su variación entre poblaciones, el proceso de crecimiento y desarrollo de dicha estructura y, por último, las bases genéticas, su heredabilidad y el patrón de la alta semejanza observada entre familiares (Relethford, 1994; Wilkie and Morriss-Kay, 2001; Martínez-Abadías et al., 2009; Šešelj et al., 2015; Roosenboom et al., 2016; Cole et al., 2017; Weinberg et al., 2018).

Estas líneas de investigación también fomentaron interés y colaboración con otras disciplinas como la anatomía, la ortodoncia y la genética quienes abordaron la morfología craneofacial a través de aproximaciones cefalométricas y antropométricas con la finalidad de comprender dicho complejo fenotipo a través de un modelo cuantitativo de herencia multifactorial (Kohn, 1991). Uno de los objetivos principales se centró en calcular la heredabilidad (h^2 , *narrow-sense heritability*²) de los fenotipos craneofaciales, es decir, la medida de la proporción de varianza en un rasgo explicado por la transmisión genética (herencia de padre y madre a hijo). Dicha estimación se denota con la ecuación $h^2 = \text{varianza aditiva} / \text{varianza fenotípica}$ y se calcula en un rango de 0.0 (la variación no es heredable) a 1.0 (toda la variación observada producto de factores genéticos) (Falconer and Mackay, 1996).

El cálculo de la heredabilidad en cualquier fenotipo multifactorial es relevante ya que permite estimar el efecto de las variantes genéticas que portan los individuos al igual que las desviaciones en el fenotipo que pueden estar influenciadas por el ambiente. Dado que la morfología craneofacial es un conjunto de fenotipos que interactúan durante el crecimiento y desarrollo de manera compleja no solo es importante tener en cuenta el carácter poligénico de esta serie de estructuras también es importante comprender el papel de las desviaciones ambientales en esta compleja interacción de fenotipos.

² La proporción de varianza entre fenotipos en una población que puede atribuirse a la varianza genética aditiva, siendo esta última la suma de los efectos promedio de todos los genes heredados en la población que afectan a un carácter particular. La heredabilidad de sentido estrecho se refiere a cuánto del fenotipo de un padre es heredado por su descendencia y, a menudo, se estima a partir de los resultados de experimentos de selección (Falconer and Mackay, 1996).

El trabajo de *Sjøvold* (1984) fue uno de los primeros estudios de heredabilidad en una serie de pedigrí de cráneo humano. Las medidas de heredabilidad de los rasgos craneales se estimaron mediante análisis de regresión logística con lo cual *Sjøvold* concluyó que la mayoría de las mediciones previamente reportadas por *William W. Howells* eran verídicas y por lo tanto sugirió que las estructuras que mostraban las mayores heredabilidades eran las relacionadas con el tamaño del cerebro, las órbitas, la nariz y el aparato masticatorio (*Sjøvold*, 1984).

Subsecuentemente *Carson* en el (2006) utilizó el método de máxima verosimilitud (*Maximum likelihood*) y llegó a la conclusión de que los valores de heredabilidad de las medidas craneométricas son menores a las estimaciones previamente publicadas y solo siete de las medidas originalmente analizadas por *Sjøvold* fueron similares entre estudios. Por lo tanto, la mayoría de los rasgos craneométricos muestran heredabilidades bajas o moderadas, sin embargo, existen algunas diferencias entre las dimensiones faciales y las medidas de la anchura craneal en cuanto a la heredabilidad (Figura 2). Según *Carson*, estas diferencias surgen de las distintas técnicas estadísticas utilizadas para la estimación de la heredabilidad, es decir, aunque los patrones de variación genética de los rasgos craneométricos han sido analizados previamente, los patrones de correlación genética entre ellos están casi inexplorados (*Carson*, 2006). *Carson* concluyó su investigación señalando que las medidas de longitud (*length*) generalmente presentan mayor heredabilidad que las de amplitud (*breadth*) de igual forma que las dimensiones faciales presentan menor heredabilidad que las medidas del neurocráneo. Por último, señala que es fundamental recordar que las medidas de heredabilidad obtenidas a partir del análisis de la muestra de *Hallstatt* explican únicamente la variación de dicha muestra

y que es sumamente importante llevar a cabo este análisis en otras poblaciones ya que seguramente se obtendrán diferentes heredabilidades (Carson, 2006).

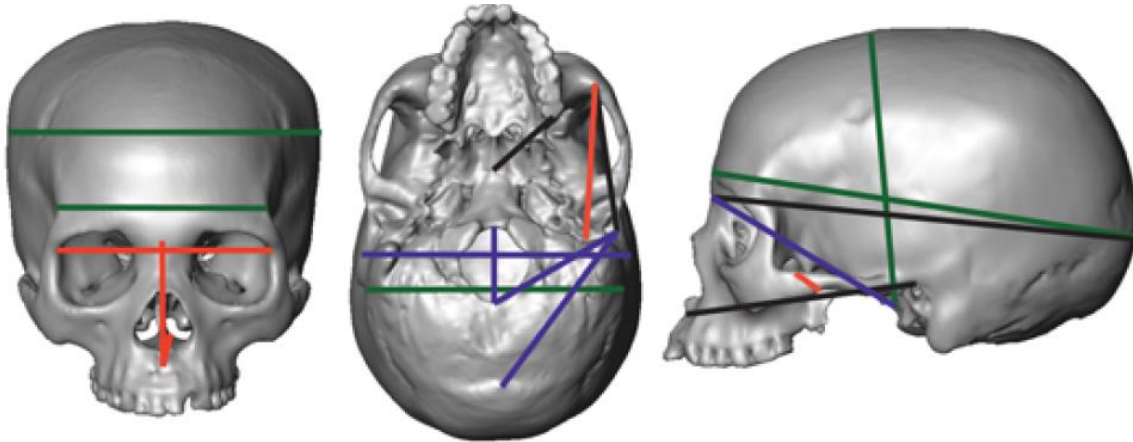


Figura 2. Vista frontal, lateral e inferior de un cráneo humano que muestra las dimensiones craneales con mayor heredabilidad. Los colores indican las dimensiones de las regiones facial (roja), neurocranial (verde) y básica (azul). Las dimensiones interregionales se representan en negro (Martínez-Abadías et al., 2009a).

La conclusión del estudio de *Carson* es de suma relevancia ya que numerosos estudios han buscado comprobar que existen variables craneales que son informativas de la estructura poblacional e historia microevolutiva de las poblaciones humanas (Friedlaender, 1975; Lees and Crawford, 1976; Williams-Blangero and Blangero, 1989; Martínez-Abadías et al., 2009a).

Los resultados de *Neus Martínez-Abadías* y colaboradores (2009) respecto a la alta correlación encontrada entre la matriz del componente genético (G) y la matriz de variación fenotípica (P) (Figura 3) son relevantes ya que describió los cálculos de la heredabilidad de los rasgos craneométricos y en segundo lugar identificó una fuerte correlación genética. Esto les permitió plantear que se pueden utilizar en abordajes de preguntas de investigación respecto a los patrones de integración morfológica

(IM) y modularidad ya que permiten controlar la naturaleza multivariada de la forma a través de la combinación de métodos de genética cuantitativa y morfometría geométrica (Martínez-Abadías et al., 2009a).

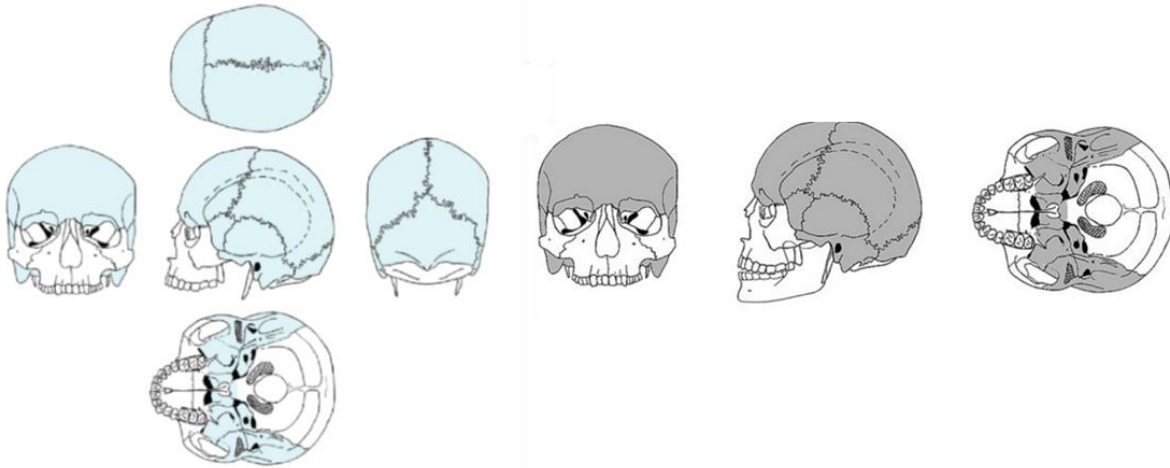


Figura 3. Regiones craneofaciales que se ajustan a un modelo evolutivo neutral (azul) respecto a las regiones que se alejan de las predicciones de neutralidad en relación con todo el cráneo (en blanco), en gris regiones informativas para reconstruir la historia poblacional.

Dicho marco aborda los efectos de las fuerzas microevolutivas sobre la morfología partiendo de una hipótesis nula de evolución neutral (Kimura, 1968). Si no se identifica una desviación entonces la deriva genética será el principal responsable de las divergencias entre las frecuencias alélicas a lo largo del tiempo al igual que entre las diferencias morfológicas. Sin embargo, si existe una presión selectiva, la selección natural disminuirá la tasa de divergencia poblacional dependiendo de qué tan grande sea la presión y que tanto se comparta entre poblaciones (Ohta, 1996). Por lo tanto, bajo modelos neutrales, la tasa de divergencia neutral entre dos poblaciones humanas está dictada por la fuerza de la deriva genética, que a su vez está determinada principalmente por la heredabilidad del rasgo morfológico de interés y el tamaño efectivo de la población. Si un rasgo morfológico es

selectivamente neutro y evoluciona principalmente de acuerdo con procesos microevolutivos neutros, las distancias entre los grupos basados en esa morfología deberían reflejar sus relaciones genéticas subyacentes, por otra parte, si la deriva genética y el flujo genético son las principales fuerzas microevolutivas de una variación morfológica particular, las distancias genéticas basadas en esa región anatómica que evoluciona de forma neutral deberían estar correlacionadas con las variantes genéticas neutras (Wright, 1984; Whitlock, 1999), aun así, lo esperado es que una característica morfológica emule el proceso evolutivo de su base genética y esto es el principio por el cual se pueden hacer inferencias genéticas del fenotipo y viceversa (McGuigan, 2006).

En resumen, las poblaciones que han divergido recientemente deberían ser morfológica y genéticamente más similares entre sí que con aquellas que son más distantes en términos de divergencia, y esto está fuertemente mediado por las dinámicas microevolutivas de mutación, deriva genética, flujo genético pero también con las interacciones con los diferentes nichos, las diferencias en dieta, la plasticidad fenotípica y los factores epigenéticos durante el proceso de crecimiento y desarrollo del esqueleto craneofacial.

1.2 Aproximaciones cuantitativas y evolutivas a la variación craneofacial

En la actualidad, las investigaciones respecto a la evolución de la estructura craneofacial en el linaje humano al igual que la variación y variabilidad dentro de nuestra especie utilizan el marco teórico derivado de la genética cuantitativa en conjunto con técnicas de morfometría geométrica con el fin de poner a prueba la

hipótesis nula de neutralidad y subsecuentemente generar modelos que predigan los parámetros esperados para contrastar lo observado con lo esperado y así poner a prueba hipótesis de carácter microevolutivo (Roseman and Weaver, 2007). Por ejemplo, la aplicación de esta aproximación a los datos morfológicos de neandertales, australopitecinos y *Homo* temprano han evidenciado que existe una consistencia en cuanto a la neutralidad del proceso evolutivo del cráneo humano moderno (Ackermann and Cheverud, 2004; Weaver et al., 2008).

En términos de nuestra especie, la estimación del componente genético y no genético de la variación fenotípica craneofacial ha sido durante mucho tiempo un foco principal de la investigación antropológica (Konigsberg LW, 2012) y la propuesta de *John Relethford* de usar modelos evolutivos marcó un cambio paradigmático que centró la atención en la creciente evidencia de las similitudes entre los patrones de variación craneofacial y los patrones de variación genética subyacentes (Buikstra et al., 1990).

La propuesta de *Relethford* y colaboradores se gestó en la década de 1980 con los primeros trabajos que adoptaron un marco analítico basado en los postulados teóricos y metodológicos de la genética de poblaciones y la genética cuantitativa (Crow and Kimura, 1970; Falconer and Mackay, 1996; Crawford, 2006) con el objetivo de analizar rasgos cuantitativos continuos para estimar datos genéticos y abordar preguntas de investigación respecto a la estructura e historia poblacional al igual que las afinidades biológicas entre poblaciones basándose en distintas suposiciones respecto a la heredabilidad de los rasgos (Relethford and Blangero, 1990a).

El modelo propuesto supone que la variación fenotípica es proporcional a la variación genética aditiva y los efectos del ambiente y por lo tanto son considerados de manera igualitaria cuando se analizan rasgos cuantitativos similares. Por otra parte, el modelo permite estimar matrices de relaciones genéticas (matrices R) a partir de rasgos cuantitativos que describen la afinidad pareada de las poblaciones, siendo que valores positivos indican que dos poblaciones son más similares en promedio y los valores negativos indican que las poblaciones son menos similares en promedio (Relethford, 1997). Este análisis fue puesto a prueba por *James M. Cheverud* y encontró que siempre que las heredabilidades de los rasgos no sean menores a $h^2 < 0.2$ la proporcionalidad de las matrices de afinidad genética y fenotípica es significativa (Cheverud, 1988a).

Recientemente *Hunley* y colaboradores han postulado un modelo que combina fisiones poblacionales seriadas con cuellos de botella y migraciones a largas distancias en conjunto con pequeños pulsos de flujo genético para explicar el patrón de diversidad genética global (Hunley et al., 2009). Con estos resultados se evidenció que los rasgos craneométricos son de gran importancia para el estudio de la estructura, demografía e historia evolutiva de las poblaciones humanas (Relethford and Blangero, 1990b; Relethford, 2002).

Ahora bien, como se mencionó anteriormente, el modelo de *Relethford y Blangero*³ fue extendido por los biólogos *James Cheverud* y *Richard Lande* quienes observaron que los datos craneométricos se ajustan de manera similar a los patrones teóricos de neutralidad basados en marcadores genéticos y, por lo tanto,

³ Su marco amplió el de *Harpending y Ward* (Harpending, 1982) el cual se basaba en datos genéticos.

utilizando las asociaciones estadísticas de las matrices de varianza-covarianza dentro y entre poblaciones se puede explorar, bajo un modelo de neutralidad la acción de las fuerzas microevolutivas. Esta aproximación ha permitido abordar temas como la estimación de la estructura e historia poblacional usando los datos craneométricos como base para estimar datos genéticos y modelar el efecto de las fuerzas microevolutivas (Lande, 1980; Cheverud J.M., 1982).

La segunda razón por la que los estudios de heredabilidad de los rasgos craneofaciales son de relevancia es debido a la posible influencia de factores ambientales en los fenotipos craneofaciales. Es decir, no solo es relevante saber cuánto contribuye el componente genético y cómo éste interactúa respecto a la acción de las fuerzas microevolutivas, se necesita entender cómo es que diferentes ambientes y perturbaciones del ambiente en el desarrollo influyen el proceso de crecimiento y desarrollo de los fenotipos craneofaciales con el fin de comprender como es que la variación entre poblaciones puede ser producto conjunto de diferencias genéticas al igual que diferencias ambientales.

1.3 Variación craneofacial y adaptaciones climáticas

Los primeros estudios relacionados con la influencia del clima en la morfología craneofacial se remontan a la década de 1970 y constituyen investigaciones respecto al efecto del clima en análisis de señales filogenéticas a partir de datos craneométricos de distintas poblaciones humanas (Guglielmino-Matessi et al., 1979). Subsecuentemente, se desarrollaron modelos que predecían el efecto del clima con el fin de comparar las predicciones con datos de colecciones donde el

efecto del clima se pudiera poner a prueba explícitamente en un marco de genética cuantitativa (Roseman and Weaver, 2007; Martínez-Abadías et al., 2009a; Betti et al., 2010). Dichas investigaciones analizaron la concordancia entre la morfología craneofacial global, el neurocráneo y el esqueleto facial respecto al clima y encontraron una fuerte asociación entre forma facial y la media de la temperatura anual cuando poblaciones humanas que viven en latitudes extremadamente altas son consideradas (Figura 4).

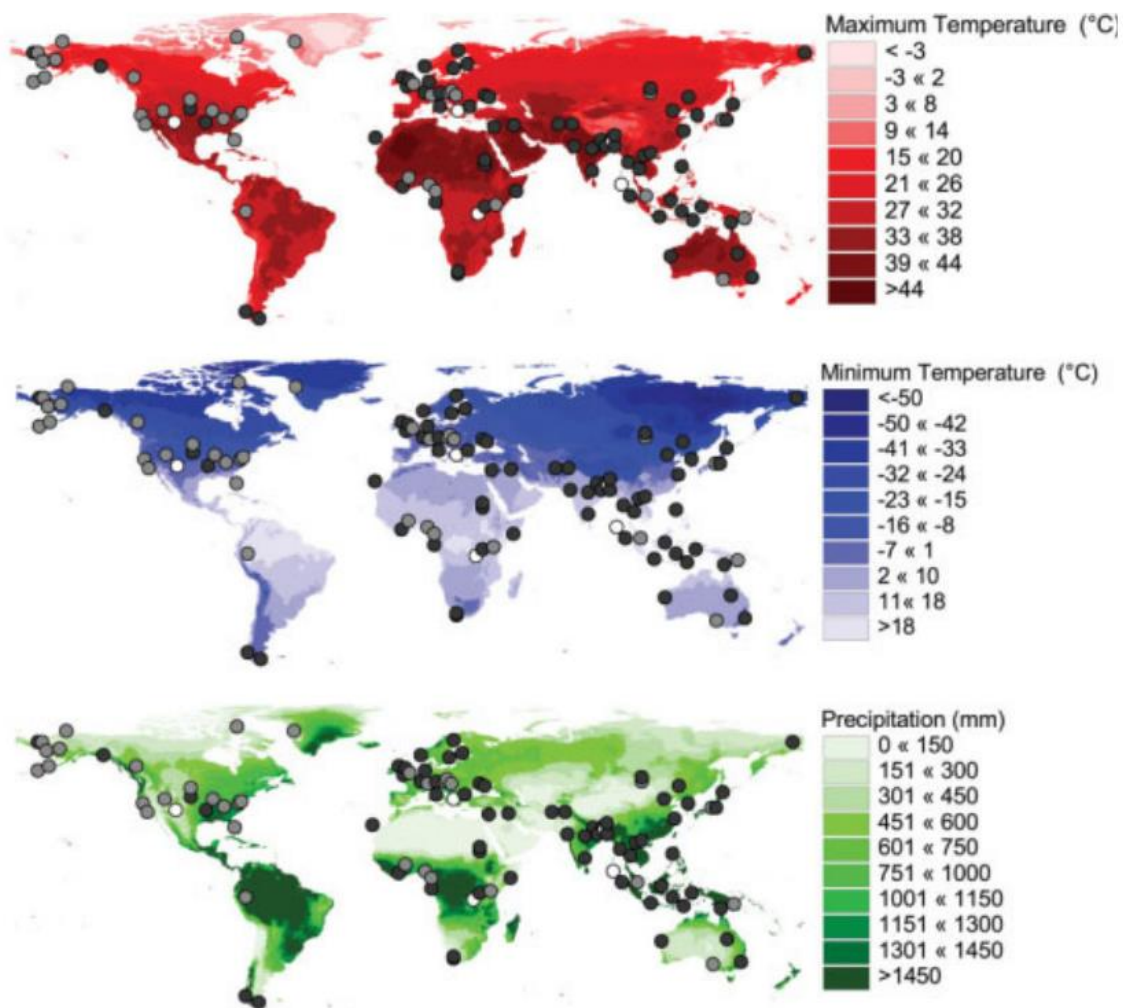


Figura 4. Muestra global de cráneos de sexo masculino (negro) y femenino (blanco) y ambos sexos (gris) graficado en un mapa de calor contra las tendencias de; máxima temperatura (arriba), mínima (en medio) y precipitación (abajo) (Betti *et al.*, 2010).

Estos hallazgos sugieren una posible convergencia entre morfología facial (el índice nasal es menor) y poblaciones adaptadas al frío en distintas regiones del mundo como son Norte América Europa y el Noreste Asiático (Hubbe et al., 2009), aunque se ha evidenciado que existe importante variación entre poblaciones en el índice nasal, medido como la forma nasal externa que derivada de la variación entre la altura y anchura nasal que puede estar vinculada a adaptaciones locales al clima (Franciscus and Long, 1991a) y también se ha propuesto un papel adaptativo de las dimensiones de la nariz respecto a la temperatura y humedad en la cual las poblaciones viven (Carey and Steegmann, 1981; Crognier, 1981).

Aun así, existe una discrepancia entre los resultados obtenidos y las hipótesis adaptativas ya que según *Franciscus y Long*, no es posible argumentar con base en las correlaciones significativas entre medidas ambientales y la morfología nasal exterior un papel adaptativo ya que el mecanismo de ventaja derivado de morfologías diferenciadas no es posible de identificar y analizar, por lo que los autores proponen que estudios futuros necesitan investigar no solo la morfología exterior sino también la morfología interior tanto en forma como en tamaño ya que dichas regiones en conjunto se encargan de la entrada y humedecimiento y calentamiento del aire que entra a la cavidad nasal (Franciscus and Long, 1991b). Bajo esta hipótesis *Noback* y colaboradores (2011) utilizaron aproximaciones de morfometría geométrica en tres dimensiones para cuantificar la forma general externa e interna de la cavidad nasal en diez poblaciones humanas distribuidas a lo largo del mundo empleando el análisis de mínimos cuadrados parciales (*Partial Least Squares Analyses*) para comparar el patrón de variabilidad morfológica a las mediciones de temperatura y humedad y encontraron una fuerte asociación entre la

forma de la capsula nasal y la temperatura y presión del vapor, los cuales tuvieron un patrón diferenciado cuando se analizó la morfología nasal externa y la interna (Noback et al., 2011).

Ahora bien, es importante resaltar las conclusiones de *Lia Betti* y colaboradores (2009) quienes enfatizan que las más altas correlaciones en rasgos singulares corresponden a la anchura facial y craneal y a las medidas que describen las aperturas nasales y orbitales, los cuales se han hipotetizado son más los que responden a presiones selectivas relacionadas al clima. Por lo tanto, no es sorpresa que las poblaciones que no se encuentran en climas extremos o cercanos a ellos se acerquen más al patrón de neutralidad, es decir, aunque se detecte un papel del clima como motor de diferencias entre poblaciones esto puede no ser replicado en el mismo conjunto de datos en cuanto a la diversidad fenotípica dentro de las poblaciones debido a que la diferenciación dentro de poblaciones puede ser afectada de diferente forma dependiendo de las fuerzas selectivas a las que estén sujetas en ese momento o recientemente en el pasado. Esto a su vez refleja que la morfología craneofacial puede jugar un papel clave en estudios de la evolución de las poblaciones a través del tiempo, sus adaptaciones a climas locales y la reconstrucción de patrones de afinidad con poblaciones extintas o actuales (Noback et al., 2011).

1.4 Variación craneofacial y adaptación por dieta

En cuanto a la relación entre la morfología craneofacial y la dieta diferenciada, encontramos que la mayoría de las investigaciones se han enfocado en estudiar los

aspectos del estrés biomecánico al masticar y por otra parte encontramos una línea de investigación que se enfoca en las diferencias morfológicas producto de diferentes estrategias de alimentación (cazadores recolectores vs agricultores).

La línea de investigación biomecánica se enfoca principalmente en entender la relación entre la plasticidad fenotípica del proceso de osificación en relación a la fuerza de masticación y por lo tanto su impacto en el tamaño y forma del cráneo humano (Lieberman, 2011). Históricamente esta línea de investigación se ha enfocado en trabajos experimentales con primates no humanos o recientemente mediante la aplicación del análisis de elementos finitos (*Finite Element Analysis*) con el fin de modelar los efectos morfológicos de diferentes cargas masticatorias derivadas de la dieta diferenciada (Hylander and Johnson, 1997; Wroe et al., 2010; Fitton et al., 2012; Ravosa et al., 2013).

Por otra parte, encontramos una gran cantidad de investigaciones de carácter bioarqueológico que se han enfocado en investigar cómo es que los patrones de dieta diferenciadas impactan en el patrón de morfología craneofacial entre poblaciones humanas contemporáneas, principalmente diferenciando entre dietas de cazadores recolectores respecto a dietas de poblaciones agricultoras o con estrategias de subsistencia sedentarias. Las hipótesis de estos trabajos plantean que la transición alimentaria hacia una dieta basada en la agricultura y la ganadería provocaron en conjunto una transición demográfica de salud y de patrones de desarrollo ontogenético que posiblemente se reflejen en diferencias anatómicas tanto en el complejo craneofacial como en el esqueleto postcraneal (Pinhasi and von Cramon-Taubadel, 2009; Gignoux et al., 2011; Pinhasi and Stock, 2011; Ravosa et al., 2013).

De hecho, una de las hipótesis en bioarqueología más relevantes postula que existe una importante interacción entre los modos de alimentación y el crecimiento y desarrollo del cráneo y la mandíbula (Spencer Larsen, 1995; Larsen, 2015a).

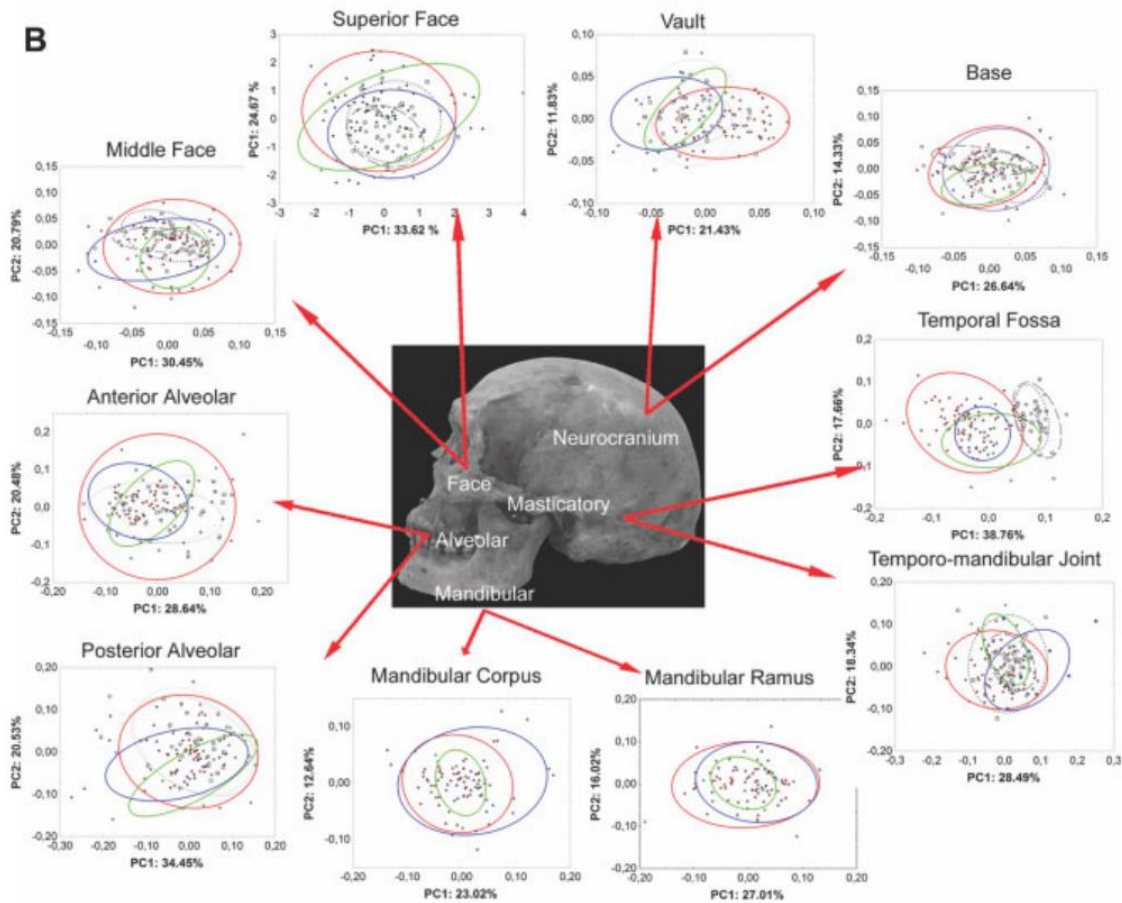


Figura 5. Gráfica de componentes principales para todo el cráneo y todas las regiones estudiadas que representan la magnitud de diferencias de forma entre poblaciones humanas con diferentes estrategias de dieta (Paschetta *et al.*, 2010).

Dicha hipótesis ha tenido sustento empírico por investigaciones llevadas a cabo en diferentes partes del mundo que evidencian que existen asociaciones entre los cambios en la robustez del cráneo y su forma en relación a la transición de alimentaciones basadas en cacería y recolección hacia la agricultura y dichas diferencias se pueden explicar debido a que las dietas más blandas y procesadas

generan menos estrés biomecánico en el aparato masticatorio (Carlson, 1976; Carlson and van Gerven, 1979; González-José et al., 2005; Pinhasi and von Cramon-Taubadel, 2009; Paschetta et al., 2010).

Esta propuesta, denominada “hipótesis de la masticación funcional” postula que al tiempo en que las poblaciones humanas transitaron de un estilo de vida cazador-recolector a uno basado en la agricultura y el sedentarismo durante el periodo Mesolítico al Neolítico y más recientemente, el aparato masticatorio experimentó menos estrés biomecánico conforme la dieta fue haciéndose más suave y procesada y por lo tanto alteró el patrón de crecimiento y desarrollo en el tercio medio e inferior craneofacial, pero también se postula que este cambio fue acompañado de un cambio en la flexión de la base del cráneo y un neurocráneo más globular. Como se puede observar en la Figura 5, la magnitud de las diferencias entre cazadores recolectores (*Indian Knoll Archaic*, diamantes rojos), horticultores (*Woodland*, diamantes verdes), agricultores (prehistóricos tardíos, diamantes azules) y agricultores amerindios del sur (Pampa Grande, cuadrados abiertos; círculos abiertos, bolivianos) para todas las regiones del cráneo se presentan en elipses de un rango del 80% para cada grupo en los dos ejes mayores de los componentes principales (PC1 y PC2) y sugieren que la mayor diferenciación entre grupos se encuentra para todo el cráneo como un todo, principalmente debido a diferencias en el neurocráneo más en la región craneofacial. No obstante, la mayor diferenciación se observa en las estructuras masticatorias. Los autores señalan que el análisis de componentes principales indica que, aunque algunas comparaciones sugieren diferencias entre grupos en la bóveda, la base del cráneo o la cara, el mayor grado de diferenciación - la relación entre los cazadores-recolectores por un

lado y los horticulturalistas y agricultores por el otro se concentra en la fosa temporal y las regiones relacionadas con la masticación (Paschetta *et al.*, 2010). Por otra parte, existe apoyo empírico en modelos de ratones, cerdos, roedores y primates que confirman que la diferencia de dieta tiene un impacto en la robustez de la mandíbula y el esqueleto facial (Corruccini and Beecher, 1984; Yamada and Kimmel, 1991; Ciochon *et al.*, 1997; Lieberman *et al.*, 2004a).

Por último, el estudio de *Noreen Von Cramon-Taubadel* (2011), que se centró en realizar una comparación global de la variación craneal y mandibular en poblaciones definidas como agricultoras o cazadores recolectores encontró diferencias consistentes en cuanto a la forma y grosor de la mandíbula y la maxila dependiendo de los patrones de subsistencia después de haber controlado los posibles factores de confusión como ancestría reciente, geografía y clima. Específicamente la autora reporta que la principal variación de la forma mandibular se asocia con diferencias en la economía de subsistencia. En términos morfológicos, las poblaciones agricultoras o pastoralistas (símbolos abiertos) tienden a presentar mandíbulas relativamente más cortas de adelante hacia atrás con ramas mandibulares relativamente más largas mientras que los cazadores recolectores (símbolos cerrados) presentan el patrón anatómico opuesto (Figura 6), independientemente del continente del que provinieran las poblaciones. (von Cramon-Taubadel, 2011). La autora concluye su trabajo sugiriendo que los resultados respecto al vínculo entre el patrón de subsistencia y la morfología del tercio medio e inferior craneofacial evidencian que el mecanismo de cambio es el de plasticidad fenotípica y no la selección natural y en segundo lugar permite abordar el fenómeno del desarrollo de

maloclusión dental en poblaciones que transitaron hacia estilos de dieta sedentarios (Kaifu et al., 2003).

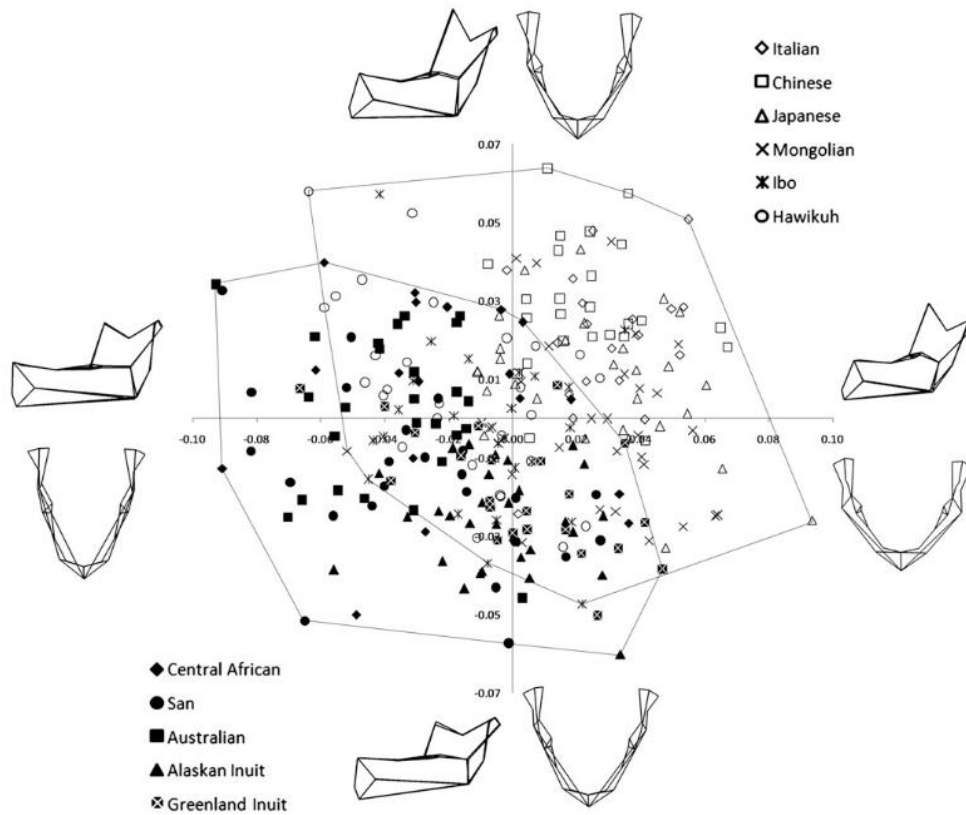


Fig. 6. Cambios de forma asociados a diferencias en estrategias de subsistencia (von Cramon-Taubadel, 2011).

Las observaciones y el planteamiento son de particular interés ya que, el tercio medio e inferior craneofaciales no solo son las que presentan la mayor desviación de la predicción de genética cuantitativa respecto a evolución neutral o bajo un modelo de mestizaje (Martínez-Abadías *et al.*, 2006), sino que al incluir la posibilidad de la plasticidad fenotípica como el agente de variación entre poblaciones abre la posibilidad a que estos no solo se expliquen por el fenómeno biomecánico de la masticación sino que también permite abordar las diferencias culturales respecto a

cómo es que dietas diferentes y cómo se preparan y consumen los alimentos entre poblaciones puede influir de tal forma que, la variación fenotípica no solo sea un fenómeno derivado de un efecto de plasticidad sino que también este influenciado por los factores bioculturales de cada población.

1.5 Abordando la complejidad craneofacial mediante estudios de modularidad

Recientemente, una mayor atención se le ha dado al hecho de que la morfología craneofacial está estructurada a partir de complejas dinámicas funcionales, genéticas y del desarrollo. Este enfoque comenzó retomando los planteamientos de *Melvin L. Moss y Richard W. Young* en su trabajo “*A Functional Approach to Craniology*” (Moss y Young, 1960b), que luego dio pie a las aproximaciones de modularidad. Este punto es de gran relevancia ya que existe una creciente literatura que considera a la estructura craneofacial humana como un mosaico de módulos (Figura 7) que siguen patrones de integración y modularidad durante el proceso de crecimiento y desarrollo del individuo que abren la posibilidad de nuevas preguntas respecto a si las diferentes regiones craneales definidas según criterios específicos difieren en la extensión en la que reflejan este patrón generalizado de evolución neutral. Siguiendo el postulado de que el cráneo es un conjunto de elementos que generan escenarios de variación multivariada, existe la posibilidad y el potencial de que el cráneo se descomponga en regiones o unidades que difieren en la extensión de evolución neutral de las unidades y la covariación entre ellas (Figura 8).

Por lo tanto, una de las primeras líneas de investigación se centró en entender si las regiones individuales del cráneo están sujetas a neutralidad, lo cual es relevante

por dos razones, primero, cualquier acción pasada de selección es probable que solo haya afectado aspectos específicos de la morfología craneofacial, lo cual también puede argumentarse que ocurrió a nivel poblacional y, por otra parte, también surge la interrogante de cuál es el efecto de esta acción de las fuerzas microevolutivas diferenciadas en cuanto al patrón global general y modular de la variación en la morfología craneofacial humana.

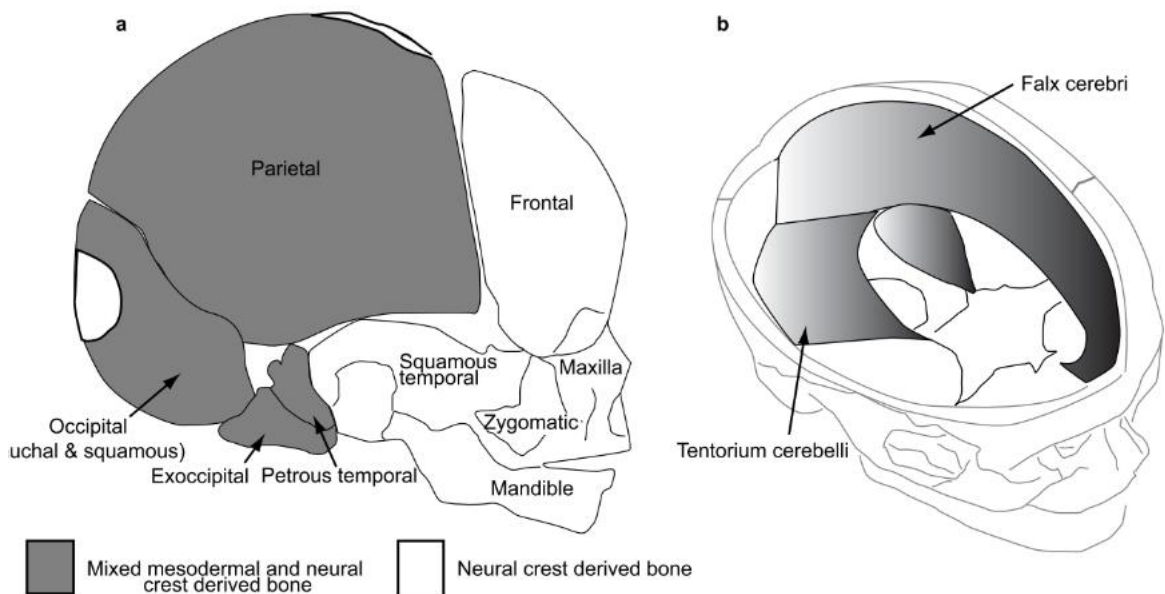


Figura 7. Módulos craneales derivados de la cresta neural versus derivadas del mesodérmico en vista lateral (Lieberman, 2011).

En este sentido, *Daniel Liberman* (2011) sugiere un proceso inductivo de tres pasos. El primer paso es determinar en qué medida y cómo se integran las características que cambiaron en un evento de especiación determinado; en otras palabras, ¿qué cambió con qué? El segundo paso es identificar los efectos funcionales de estos cambios y considerar cómo habrían afectado la función de otros cambios modulares propuestos. El tercer paso es generar hipótesis comprobables sobre cómo la

selección podría haber actuado, tratando de rechazar simultáneamente la hipótesis nula alternativa de que una característica dada es una adaptación y una exaptación (Lieberman, 2011a).

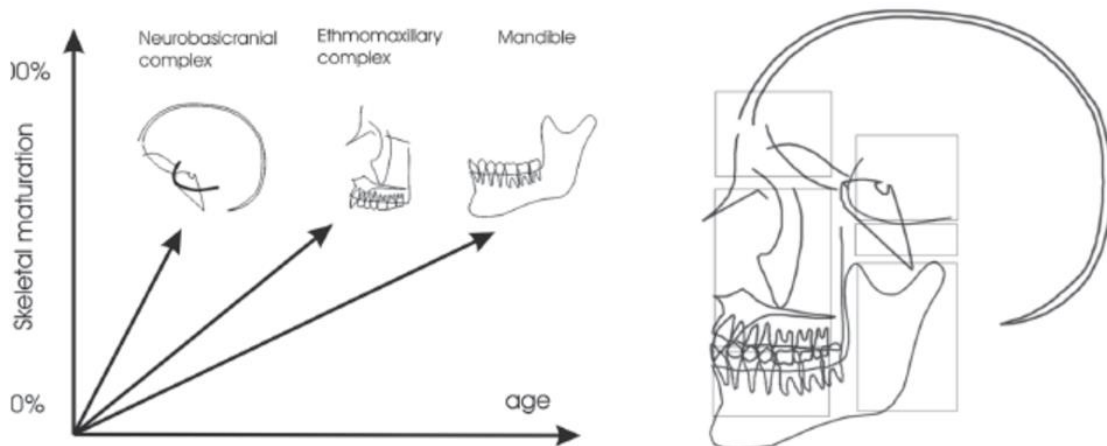


Figura 8. Secuencia temporal de maduración esquelética propuesta por Enlow (1990). El neurocráneo madura junto con el cerebro y la base del cráneo en la línea media mientras que el rostro y los elementos asociados maduran más tarde, por lo que se ha sugerido que el desarrollo de la base craneal limita el del rostro.

Para poder abordar estas interrogantes con una mayor resolución analítica y estadística se ha llevado a cabo una transición metodológica hacia la morfometría geométrica en dos y tres dimensiones basadas en *landmarks*. Dicha metodología se basa en la identificación de coordenadas homologas que permiten aplicar una serie de técnicas matemáticas para el análisis y comparación de las propiedades geométricas de un objeto. En el caso de la variación craneofacial, la estrategia de *landmarks* no solo permite capturar la forma craneofacial general, sino que también permite capturar puntos anatómicos no tradicionales mediante el uso de *semi-landmarks* lo cual permite dividir el cráneo en regiones a la vez que se retiene un alto porcentaje de la forma general lo cual hace más flexible el análisis (Gunz et al., 2005; Slice, 2006).

Para llevar a cabo esta aproximación, se dividió al esqueleto craneofacial en “módulos” morfológicos que se definen por estar estrechamente integrados entre ellos, ya que dichos módulos probablemente están influenciados por genes pleiotrópicos o genes en alto grado de desequilibrio de ligamiento (Mitteroecker and Bookstein, 2007, 2009). Esta aproximación es relevante ya que la predicción postula que el cambio evolutivo de los módulos se puede explorar con base en que estos módulos comparten un proceso de crecimiento y desarrollo, una función o están físicamente posicionados cercanamente en la arquitectura craneofacial (González-José et al., 2004; Willmore et al., 2007) lo cual implica que existe una jerarquía de conectividad entre varios elementos del fenotipo craneofacial (Bastir and Rosas, 2005a) y que estas conexiones pueden variar dependiendo de la naturaleza e intensidad de su integración durante el proceso de desarrollo o su papel funcional (Klingenberg, 2013).

Por ejemplo, los trabajos de *Cheverud* y colaboradores se basaron en el análisis de la matriz funcional (Figura 9). Dicha aproximación permite realizar un análisis para identificar las relaciones funcionales y del desarrollo dentro del cráneo asumiéndolo como un conjunto interconectado de unidades denominadas componentes funcionales los cuales realizan funciones semi-independientes como la respiración, visión, olfato y procesamiento sensorial (Moss and Young, 1960b; Moss and Salentijn, 1969b). El primer trabajo de *Cheverud* (1982) se enfocó en una revisión de los componentes principales del cráneo, es decir, el componente neurocraneal y el orofacial bajo la hipótesis de la matriz funcional lo cual arrojó que los componentes principales del cráneo también contienen varias submatrices (Figura 4).

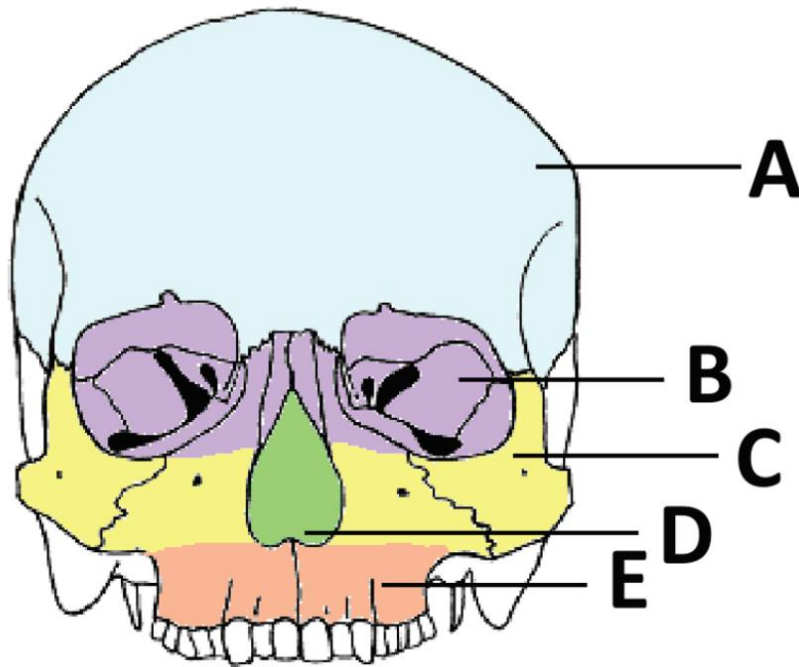


Fig. 9. Unidades esqueléticas asociadas a la matriz 'orofacial'⁴. (Cheverud, 1982).

Subsecuentes estudios llevados a cabo con diferentes taxones del orden primate (Cheverud J.M., 1982; Cheverud, 1995; Ackermann and Cheverud, 2002; Marroig and Cheverud, 2004; de Oliveira et al., 2009; Singh et al., 2012a) y poblaciones humanas modernas (González-José *et al.*, 2004) contribuyeron con evidencia empírica de los módulos funcionales propuestos por *Cheverud* en 1982.

Con el sustento empírico de los módulos craneofaciales, durante la última década se gestaron dos grandes enfoques de investigación. El primero se ha centrado en poner a prueba si la morfología craneofacial general o por módulos craneales particulares son mejores predictores de historia evolutiva y filogenia (Wood and Lieberman, 2001) y, por otra parte, los trabajos enfocados en analizar que regiones craneofaciales y a qué grado dichas regiones reflejan afinidades genéticas neutras

⁴ La hipótesis de la Matriz Funcional (Moss & Young, 1960) postula que el componente 'orofacial' puede subdividirse en (A) Frontal, (B) Orbital, (C) Masticatorio, (D) Nasal y (E) Oral. El hueso frontal también contribuye a la matriz "neurocraneal", que se aproxima a la bóveda craneal, lo que ilustra la falta de concordancia estricta entre los huesos del cráneo y los componentes funcionales

entre poblaciones humanas globalmente distribuidas (Harvati and Weaver, 2006; Smith, 2011). De hecho, aunque parece ser que los módulos craneales no son óptimos indicadores filogenéticos, dichos módulos han sido estadísticamente significativos respecto a los patrones de evolución neutral, lo cual evidencia que la forma craneofacial es un fuerte indicador de la historia poblacional del pasado (von Cramon-Taubadel, 2009) y por lo tanto se puede abordar en cuanto a estudios entre poblaciones bajo un modelo de gen-fenotipo. Ahora bien, es pertinente señalar que la parte media y el tercio inferior craneofacial, que son el objetivo de análisis craneofacial de este estudio contienen a las regiones craneales que como se puede observar en la Figura 6 no se ajustan a las predicciones de evolución neutral. Esta observación se ha hecho por un número importante de investigaciones que se relacionan con los aspectos de adaptación climática y a la dieta en poblaciones humanas (Hylander, 1977; Lieberman et al., 2004b; González-José et al., 2005; Sardi et al., 2006; Hubbe et al., 2009; Noback et al., 2011; Larsen, 2015b) y sugieren que dichos factores, a través de presiones selectivas diferenciadas para cada población humana son responsables de moldear el patrón global de diversidad craneométrica de manera diferenciada entre las partes del cráneo que presentan una evolución neutral respecto a las partes que no presentan un patrón no neutral.

1.6 Modularidad e integración morfológica

El hecho de que múltiples partes de la misma estructura, por ejemplo, el cráneo estén interrelacionadas a diferentes niveles de organización y en nivel de magnitud debido a funciones conjuntas o rutas del desarrollo compartidas dentro ha sido un

tema de renovado interés abordado por antropólogos y biólogos a partir de los aportes teóricos de la biología evolutiva del desarrollo (*Evo-devo*) y su conjunción con la Morfometría Geométrica para estudiar las relaciones fenotípicas, sus causas y su capacidad de generar conjuntos de fenotipos que se integran en organismos fuertemente cohesionados. Dicha línea de investigación ha sido denominada integración morfológica.

En términos de la morfología craneofacial, encontramos que este conjunto de fenotipos o rasgos está constituido por partes que están integradas entre ellas debido a que se desarrollan, funcionan y evolucionan en conjunto lo que lleva a que la integración craneal sea inevitable desde una perspectiva del desarrollo, porque comparten precursores y rutas de señalización, funcional, porque comparten interacciones funcionales espacialmente mediadas por mecanismos epigenéticos y genética, por el efecto del ligamiento genético y la pleiotropía y por último, evolutiva porque reaccionan a presiones de selección de manera integrada (Lieberman, 2011a).

Dentro de esta perspectiva, recientemente se planteó otro concepto que está fundamentalmente interrelacionado al concepto de integración morfológica (IM), el concepto de modularidad, y de manera conjunta estos conceptos abordan las relaciones entre rasgos, es decir, cómo diferentes rasgos de un organismo están fuertemente o débilmente correlacionados. Por una parte la IM se define como el patrón general de inter-correlaciones⁵ y el concepto de modularidad se define como

⁵ Chernoff y Magwene (1999) proponen una redefinición del concepto de Integración Morfológica como; la correspondencia de patrones de covariación entre rasgos a una a priori o a posteriori hipótesis biológica.

la partición de la IM en bloques con poca o nula integración entre ellos (unidades semiautónomas llamadas módulos) que se debe a relaciones funcionales, genéticas, por el proceso de crecimiento y desarrollo o por proceso evolutivos (Goswami and Polly, 2010a). Dicho de otra forma, los patrones de correlaciones entre los rasgos o las matrices de covarianza⁶ permiten analizar el grado y magnitud de interdependencia entre rasgos morfológicos (IM) y a la vez pueden identificar subconjuntos de rasgos que se estructuran de manera independiente y son más dependientes entre ellos (módulos) de lo que son a otros subconjuntos (Klingenberg, 2008).

Históricamente, el concepto IM proviene de la observación de que diferentes partes de los organismos están coordinados en sus tamaños y formas para “integrar” un todo funcional, esta observación se consolidó mediante la propuesta que hicieron *Olson y Miller* en 1958 (Olson and Miller, 1958) quienes estudiaron las correlaciones entre rasgos para definir los grupos-P (*P-groups*) que son agrupaciones cuantitativamente derivadas en que todos los rasgos pareados están altamente correlacionados y por otra parte, definieron a los grupos-F (*F-groups*) cualitativamente como agrupaciones integradas por sus funciones o por procesos del desarrollo y demostraron que existe una fuerte correspondencia entre los dos grupos (Olson and Miller, 1958).

⁶ La covarianza es esa parte de la varianza conjunta de dos rasgos que está asociada; la correlación es lo mismo que la covarianza para dos rasgos que han sido estandarizados para tener varianzas de 1.

Como se mencionó anteriormente, en la actualidad el concepto de IM ha sido extensivamente retomado y extendido en genética cuantitativa y la biología evolutiva del desarrollo (Cheverud, 2004; Hallgrímsson et al., 2004; Mitteroecker et al., 2004; Klingenberg, 2008, 2013) y con el surgimiento de la Morfometría Geométrica y su consolidación en las últimas tres décadas han generado un renovado interés por estudiar las bases biológicas de la IM y más recientemente la modularidad (Adams et al., 2013).

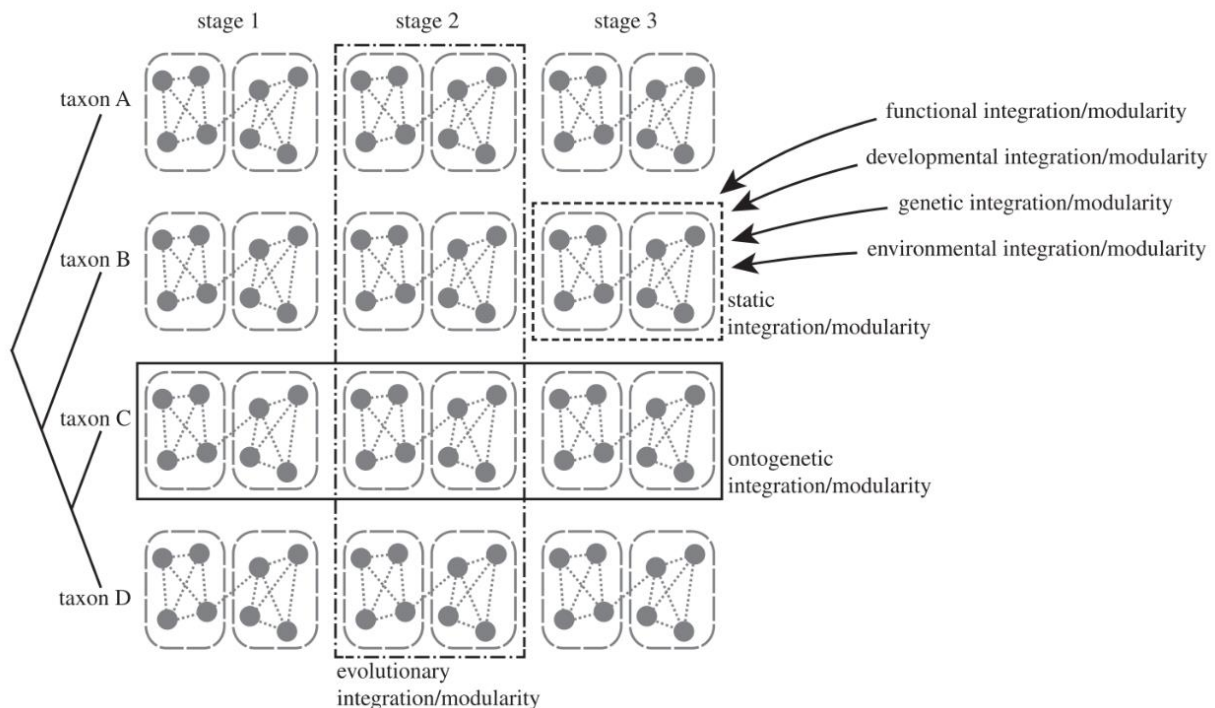


Figura 10. Diferentes niveles de integración y modularidad según Klingenberg (2014).

Según *Klingenberg* (2008) la IM puede ser observada en distintos niveles dependiendo del origen de la variación bajo consideración y de las observaciones estudiadas. En cada nivel, la integración está asociada a la covariación entre partes, sean estructuras o rasgos, pero en esencia dependiendo del nivel de IM que se esté

estudiando va a diferir el enfoque y el contexto conceptual respecto al origen de la variación.

Como se puede apreciar en la Figura 10, un punto fundamental en el estudio de los diferentes niveles de IM es que los mecanismos responsables de la integración son, en su mayoría, imposibles de observar directamente y por lo tanto se estudian mediante la covariación entre rasgos morfológicos e hipótesis acerca de los efectos que los diferentes niveles de integración pueden tener en la covariación de las estructuras o rasgos y es importante resaltar que múltiples niveles de integración pueden ser incluidos en un solo estudio y compararlos unos contra otros.

De manera general las interacciones más estudiadas dentro del campo de la IM corresponden a interacciones durante el crecimiento y desarrollo a partir de la integración del desarrollo (*developmental integration*), interacciones funcionales para la integración funcional (*functional integration*), efectos de ligamiento genético o pleiotropía a través de la integración genética (*genetic integration*), y por último la evolución de diferentes partes en conjunto mediante integración evolutiva (*evolutionary integration*) (Figura 12).

Para la integración genética se utiliza la genética cuantitativa para poner a prueba hipótesis en diseños experimentales donde se conoce las relaciones de parentesco de los individuos (Martínez-Abadías et al., 2012b). Por otra parte, la IM puede estudiarse bajo un enfoque de proceso, a partir de la Integración funcional y la Integración del desarrollo (Breuker *et al.*, 2006). Por otra parte, la integración del desarrollo puede ser inferida a partir de la covariación de la asimetría fluctuante en individuos o poblaciones (Klingenberg, 2015), y por último, la integración evolutiva puede ser estudiada a partir de datos de variación interespecífica y análisis

filogenéticos comparativos con el fin de examinar cambios evolutivos en múltiples partes y como se coordinan a lo largo de un conjunto de especies en un clado (Felice *et al.*, 2020). Por otra parte, el concepto de modularidad expande aproximaciones previas como las de la Hipótesis de Matriz Funcional (Moss and Young, 1960b) en cuanto a que es igualmente aplicable a aspectos morfológicos, funcionales, genéticos y del desarrollo de los organismos. Esta idea se basa en que la IM no es uniforme a lo largo de los organismos en su totalidad, se concentra en complejos o estructuras del organismo que están fuertemente integradas internamente a la vez que son relativamente independientes de otros complejos similares, lo que previamente denominamos como módulos. Por lo tanto, la integración débil entre módulos, es decir, Modularidad, puede contribuir a mitigar los efectos de constreñimientos a la variación en un escenario de completa integración morfológica, por ejemplo, los trabajos de *James Cheverud* y *Gunter Wagner* han planteado que la modularidad genética y la modularidad del desarrollo deberían evolucionar para equiparar a la modularidad funcional (Cheverud, 1996; Wagner and Altenberg, 1996b).

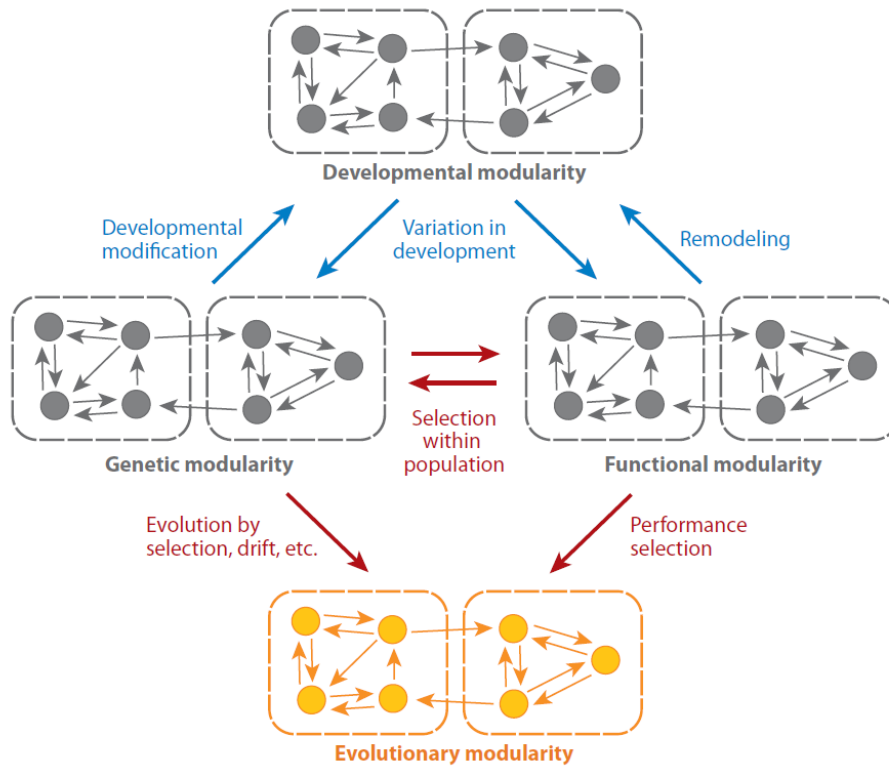


Figura 11. Tipos de modularidad vinculadas a la variación morfológica y su conexión entre ellas. Las líneas azules representan influencias mutuas entre tipos de modularidad dentro de individuos y las rojas dentro de poblaciones

Como se puede apreciar en las Figuras 10 y 11 los tipos de modularidad más estudiados se empalman con los tipos de IM. Estos tipos de modularidad son; funcional, del desarrollo, genética y evolutiva y se estudian mediante el análisis de estructuras que comparten interacciones funcionales, a través del análisis de covariación de asimetría fluctuante, estudiando experimentalmente los efectos de genes individuales o considerando el efecto agregado del genoma completo y por ultimo mediante varios métodos filogenéticos comparativos que están disponibles (Klingenberg, 2013). En este sentido, la diferencia entre los tipos de modularidad se encuentra en el enfoque de estudio, es decir, la modularidad busca identificar redes de interacciones conocidas entre módulos basadas en los patrones de conectividad e interacción entre las partes de interés, por ejemplo, redes bioquímicas, de señalización y regulación genética no son directamente posibles de observar en

estudios morfométricos, por lo que en la mayoría de los casos la modularidad o la acción de los diferentes tipos tiene que ser inferida a partir de los patrones de variación y covariación dentro y entre módulos pero también en distintos niveles de interacciones (Klingenberg, 2013).

Según Klingenberg (2014) es posible combinar diferentes estrategias de análisis, por ejemplo el estudio de la asimetría fluctuante que se usa para inferir modularidad en el desarrollo se puede combinar con análisis de genética cuantitativa, al igual que con análisis comparativos controlados filogenéticamente entre especies para estudiar modularidad evolutiva (Klingenberg, 2013). Por ejemplo, se han llevado estudios comparativos de IM y alometría entre ratones, humanos y otros primates para identificar similitudes en el origen en el desarrollo de la variación (Hallgrímsson et al., 2004; Martínez-Abadías et al., 2012b). Por ende, la mayoría de los estudios que exploran IM también abordan hipótesis de modularidad debido a que la IM puede constreñir la variación de los rasgos mientras que la modularidad puede circunvalar los efectos de la IM (la canalización del desarrollo y la pleiotrópica genética) a través de las débiles covariaciones entre módulos y así abrir paso a la generación de nuevas morfologías, es decir la acción conjunta de estos mecanismos puede coordinar asociaciones funcionales o por el proceso de crecimiento y desarrollo entre rasgos que, en otras circunstancias, no funcionarían efectivamente si cada uno se modificara de manera independiente en respuesta a la procesos de selección (Atchley and Hall, 1991; Bookstein, 1996; Wagner et al., 2007; Adams et al., 2013).

1.7 Integración Morfológica y Modularidad en primates y humanos

En el caso de los primates y los seres humanos la línea de investigación principal se ha enfocado en identificar los módulos en el esqueleto craneofacial (Figura 12) y, por otra parte, a establecer la relación entre los patrones observados de IM y sus posibles causas, es decir, si tiene un origen funcional, en el proceso de crecimiento y desarrollo, genético o evolutivo. En este sentido se ha demostrado que la IM y Modularidad difieren entre *taxas* y además cambian a través del tiempo (Marroig and Cheverud, 2001; Ackermann, Rebecca RodgersCheverud, 2004; Goswami and Polly, 2010b). Mas aún, los cambios a través del tiempo se reflejan principalmente como nuevas interacciones funcionales o del proceso de crecimiento y desarrollo que vinculan rasgos en nuevos patrones de IM, mientras que la fragmentación de otras interacciones llevará al desacoplo de previas relaciones y por lo tanto dando pie a modularidad(Esteve-Altava *et al.*, 2015).



Figura 12. Módulos de esqueleto craneofacial basados en análisis de redes anatómicas. Complejo craneal (rojo), complejo facial (azul) y complejo tiroideo (verde)(Esteve-Altava *et al.*, 2015).

Este fenómeno fue descrito por *Wagner y Altenberg* como un motor de evolucionabilidad, es decir; la posibilidad de nueva variación dentro de viejos patrones de IM debido a una nueva independencia a partir de Modularidad (Wagner and Altenberg, 1996a).

En cuanto a la integración genética y modularidad genética, éstas han recibido considerable atención en mamíferos y primates debido a la relación entre los patrones de variación genética, su covariación y su papel en el cambio de la forma en términos evolutivos. En este sentido, ya se mencionaron varios de los estudios de *James Cheverud* y colaboradores, pero en este caso sus investigaciones enfocadas en las relaciones entre Integración genética y fenotípica basadas en genética cuantitativa a partir de las matrices de varianza y covarianza fenotípica (matriz P) y la matriz genética aditiva (matriz G) permitieron investigar diferentes estructuras como el cráneo y la mandíbula con el fin de estudiar las relaciones entre los patrones de integración y como estos evolucionan dentro y entre linajes. Sus resultados identificaron correlaciones aunque no siempre se logró establecer una perfecta correspondencia entre módulos genéticos, funcionales y del desarrollo (Cheverud, 1982, 1996, 2004; Cheverud et al., 1997).

Estos resultados son relevantes ya que, la Integración fenotípica y la modularidad son producto de factores genéticos y no genéticos y, al contar con ambas matrices (G y P), se puede particionar la varianza en su componente genético aditivo y ambiental a la par de calcular la heredabilidad de los caracteres y así estimar las influencias del ambiente en un modelo controlado. Otro punto de gran importancia es que debido a que la matriz G es un componente de la integración fenotípica descrita por la matriz P, esto hace que las correlaciones fenotípicas sea una

aproximación efectiva a las correlaciones genéticas y permite el abordaje de hipótesis genéticas en conjuntos de datos únicamente morfológicos (Cheverud, 1988b). En la actualidad esta aproximación se ha extendido a humanos (Martínez-Abadías et al., 2012a).

Por otra parte, diversas aproximaciones han abordado los efectos de mutaciones específicas en la fuerza y el patrón de integración con el fin de identificar los posibles mecanismos que contribuyen a la integración y modularidad al igual que en escenarios comparativos entre ratones, primates y humanos. La primera de estas aproximaciones se basa en el mapeo genético de QTLs o *Quantitative trait Loci* (por sus siglas en Inglés) con el fin de explorar como las variantes genéticas afectan la forma de una estructura o rasgo o los patrones de integración y modularidad en un diseño experimental basado en linajes puros (*"inbred"*). Los estudios se han enfocado principalmente en la región craneofacial y la mandíbula en particular y los resultados han evidenciado una compleja interacción entre varios QTLs que afectan a las formas de manera compleja y además señalan que los efectos no aditivos son importantes para el estudio de la forma y su variación (Cheverud et al., 1997; Klingenberg et al., 2001, 2004; Ehrich et al., 2003; Mitteroecker and Bookstein, 2009; Parsons et al., 2011; Klingenberg, 2013; Hünemeier et al., 2014).

Otra reciente aproximación que ha cobrado fuerza se basa en el estudio de los efectos agregados del genoma completo en un conjunto de rasgos morfológicos enfocándose en los patrones y cantidad de variación genética para obtener la covarianza y así estimar las correlaciones entre individuos donde el pedigrí es conocido. Esta aproximación se ha extendido a partir del uso de las matrices de covarianza genética como medio para predecir la respuesta a procesos de selección

mediante la simulación de los efectos localizados en una forma particular y cómo esta respuesta impactaría de manera local y global a través de los patrones de integración y modularidad. Si la integración de la variación total se concentra en el componente principal 1 de la matriz, entonces los efectos de la deriva genética o la selección pueden tener mayor efecto mediante lo que se han denominado “líneas genéticas de menor resistencia” (Mitteroecker et al., 2004; Martínez-Abadías et al., 2009b, 2011, 2012a).

De hecho, el trabajo de *Martínez-Abadías* y colaboradores (2012) que utilizó un modelo de predicción de los efectos que tendría la selección respecto a cambios particulares en la forma del cráneo humano y encontró que las respuestas predichas afectan al cráneo por completo, indicando que la variación genética para la forma del cráneo humano está altamente integrada. Subsecuentemente los análisis de IM y modularidad entre las matrices G y P mostraron que ninguna de ellas se ajusta a la hipótesis de que el frente, la bóveda y la base craneal son módulos completamente independientes; en cambio, estas estructuras están fuertemente integradas. Para ambas matrices de covarianza, la covariación entre subconjuntos de puntos de referencia de acuerdo con esta hipótesis no es más débil que la covariación para otras particiones, como se hubiera esperado bajo la hipótesis (Martínez-Abadías *et al.*, 2012). Estos resultados indican que la integración del desarrollo en el cráneo, como se manifiesta en la estructura de las matrices de covarianza genéticas y fenotípicas, tiene un efecto importante en el resultado de la selección y, por lo tanto, sugieren que el contexto adaptativo para la evolución del cráneo humano puede necesitar para ser reinterpretado. En esta perspectiva, el sistema genético y de desarrollo juega un papel importante en la evolución humana

y debe tenerse en cuenta al considerar los factores selectivos que estuvieron involucrados (Lieberman, 2008, 2011b).

Esta fuerte integración genética es de suma importancia para comprender la evolución morfológica de los primates y los humanos debido a que las respuestas del cráneo a presiones selectivas están sesgadas hacia cambios globales de la forma a lo largo de todo el cráneo, lo cual introduce ruido para la interpretación de las razones por las que ocurren cambios en la forma en respuesta a la selección y por lo tanto las inferencias respecto a las presiones selectivas no serán confiables, es decir, no hay una correspondencia directa entre el cambio en la forma y la presión selectiva que guió esa respuesta evolutiva. Esto a su vez tiene implicaciones filogenéticas, ya que si el cráneo no puede ser dividido en subunidades anatómicas o funcionales independientes entonces no son informativas para inferir filogenias, si la variación genética asociada a la forma del cráneo observada en una población humana es representativa de las poblaciones del pasado, la evolución en todas las partes del cráneo es altamente interdependiente y por lo tanto, diferentes módulos del cráneo, debido a que están fuertemente integrados son poco probable de producir información independiente sobre la historia evolutiva y filogenética entre las especies de homínidos (Martínez-Abadías *et al.*, 2011).

Klingenberg (2013) señaló que; “aun cuando los estudios de Integración y modularidad genética se han vuelto abundantes debido al avance de los métodos estadísticos y tecnologías genómicas y de digitalización, investigar la base genética de la IM y modularidad permanece difícil debido a la limitante de poder estadístico para detectar efectos genéticos y por la incertidumbre de las estimaciones de los parámetros genéticos debido a los tamaños de muestra y sugiere que se requiere

aumentar el tamaño de muestra, explorar más pedigríes con el fin de lograr caracterizar la naturaleza exacta de la Integración y modularidad genética en estructuras complejas como por ejemplo el cráneo de humanos y mamíferos” (Klingenberg, 2013).

Otro ejemplo del alcance de las investigaciones de IM y modularidad es el reciente trabajo de *Borja Esteve-Altava* y colaboradores (2015) quienes investigaron la compleja evolución de la modularidad en el clado de los primates basándose en análisis de teoría de redes para analizar si la modularidad y la complejidad evolucionaron de forma coordinada en el cráneo de los primates mediante el patrón de contactos óseos modelados como redes para identificar módulos de conectividad y cuantificar la complejidad morfológica y encontraron que los cráneos de los primates existentes se dividen en un módulo craneal conservado y hasta tres módulos faciales lábiles, cuya composición varía entre los primates. A pesar de los cambios en modularidad, los análisis estadísticos rechazan una retroalimentación positiva entre modularidad y complejidad lo que sugiere un desacoplamiento de la complejidad y la modularidad que se traduce en diferentes niveles de restricción sobre la evolución morfológica del cráneo de los primates (Esteve-Altava *et al.*, 2015).

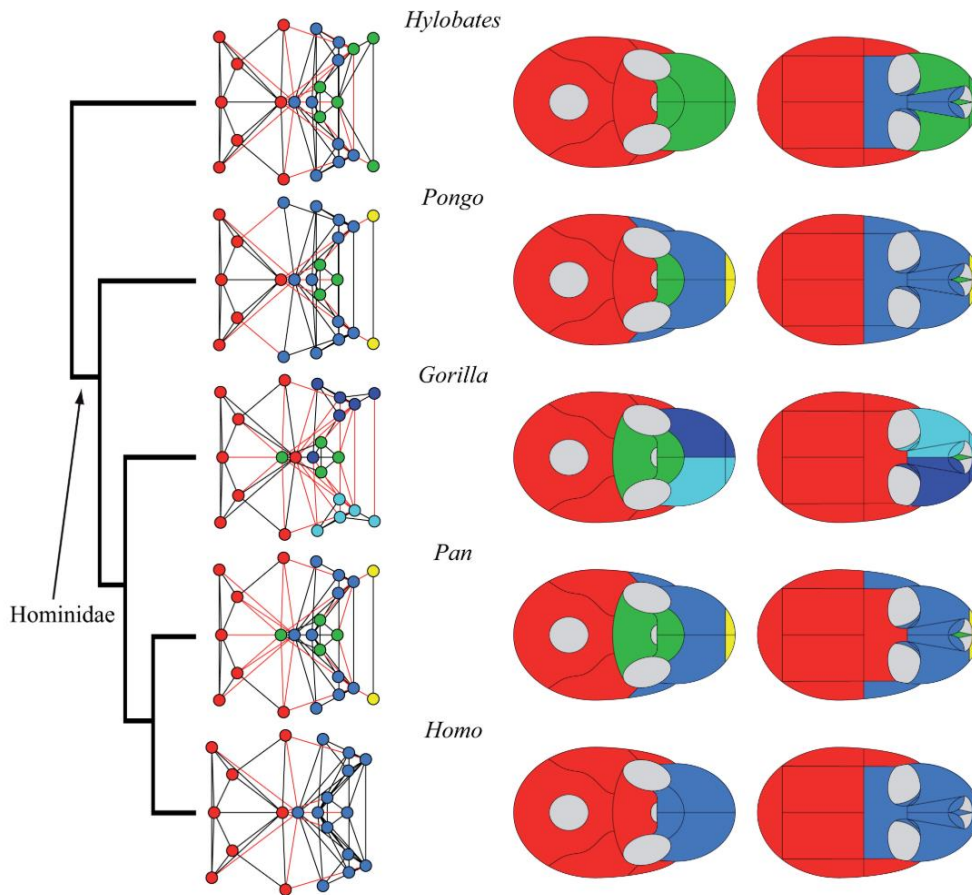


Figura 13. Conectividad de módulos identificada en cráneos de *Hylobates* y grandes simios. Se observa una gran variabilidad en los huesos que componen los tres módulos en este grupo (rojo, azul y verde). El cráneo humano muestra una división de dos módulos (facial y craneal) único dentro de los primates.

A la par de estas investigaciones, se han llevado a cabo numerosos trabajos donde se ponen a prueba diferentes divisiones del cráneo y diseños de estudio para evaluar el patrón de covariación entre estas hipótesis modulares, por ejemplo; base craneal, fosa craneal y rama mandibular (Bastir and Rosas, 2005b), rostro vs neurocráneo (Mitteroecker and Bookstein, 2008), rostro, base del cráneo y bóveda craneal (Gkantidis and Halazonetis, 2011; McCane and Kean, 2011; Singh et al., 2012b), parietal, occipital, temporal y la bóveda craneal (Gunz and Harvati, 2007), entre diferentes partes de la mandíbula (Harvati et al., 2011), entre cerebro y cráneo (Bastir *et al.*, 2010) y entre el tejido facial y el esqueleto facial (McCane and Kean,

2011). Los resultados de estas investigaciones señalan que, en general, la IM entre diferentes partes craneales es particularmente fuerte y los patrones de covariación asociados a los ejes generados por el análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS) casi siempre sugieren explicaciones ya sea biológicas o adaptativas para esta integración (Klingenberg, 2013).

Retomando los estudios respecto a dieta y clima, los más recientes se llevaron a cabo bajo una perspectiva de IM y plasticidad fenotípica, donde los factores que contribuyen a la variación en la forma craneofacial se extienden más allá del componente genético y ambiental para abordar variables como los modos de subsistencia y su impacto en la morfología y variación del cráneo y la mandíbula bajo la hipótesis de que los cambios en la forma estarán relacionados a diferencias en la consistencia de alimento y la fuerza requerida en la masticación, lo cual es informativo de los efectos funcionales de la masticación, el remodelado óseo bajo estrés mecánico y su papel como variable en la IM y Modularidad (Paschetta et al., 2010; von Cramon-Taubadel, 2011).

Por último, *Klingenberg* (2013) señala que el estudio de modificaciones intencionales del cráneo (Cheverud et al., 1992; Martínez-Abadías et al., 2009b) y dismorfias de enfermedades con etiologías conocidas y mutaciones genéticas identificadas son campos de gran interés y poco estudiados (Richtsmeier and DeLeon, 2009; Heuzé et al., 2012) que representan un recurso de gran valor para los estudios de IM y Modularidad en el cráneo humano.

Capítulo II. El estudio del componente genético craneofacial

Como se mencionó en el capítulo anterior el estudio craneofacial por parte de la antropología física estimuló el diálogo y colaboración con distintas disciplinas. En este sentido, la genética rápidamente estableció líneas de investigación enfocadas en la identificación de los genes responsables de síndromes congénitos y enfermedades mendelianas asociados a fenotipos craneofaciales. Estas líneas de investigación fomentaron el desarrollo de aproximaciones cualitativas y cuantitativas con el fin de aportar al entendimiento del componente genético de la morfología craneofacial humana (Sperber et al., 2010).

En la actualidad se considera al cráneo humano como un ensamblaje de fenotipos multifactoriales complejo que presenta una variación entre individuos y poblaciones producto de la interacción entre el componente genético, influencias ambientales (Cole and Spritz, 2017) e interacciones durante el proceso de crecimiento y desarrollo (Lieberman, 2011b). Ahora bien, los estudios en gemelos y familias han evidenciado que la heredabilidad se extiende de moderada a alta dependiendo del fenotipo craneofacial y por lo tanto existe un importante rango de variación entre los niveles de heredabilidad de algunas regiones faciales que están más fuertemente influenciadas por el ambiente que por el componente genético (Naini and Moss, 2004; Carson, 2006b; Sherwood et al., 2008; Martínez-Abadías et al., 2009; Weinberg et al., 2013; Šešelj et al., 2015).

En principio, el estudio del componente genético craneofacial se ha dado principalmente a través del estudio en animales modelo (principalmente ratones, perros, pez cebra y macacos) ya que permiten el análisis en distintos periodos del crecimiento y desarrollo. Dichos estudios han resaltado la importancia de genes como los *SHH* (*Sonic hedgehog*) y *BMP* (*bone morphogenic protein*) los cuales se han asociado con el desarrollo del complejo orofacial y paladar en humanos (Hu *et al.*, 2015). Otros estudios han identificado a los genes *LINE-1*, *DLX6* y *DLX5* en fenotipos de paladar hendido (Wolf *et al.*, 2014). De forma similar, *NOL11* produce anomalías craneofaciales al igual que los genes *ALX1* y el *Mn1* que se han asociado a la formación normal del cerebro y variación entre individuos (Uz *et al.*, 2010; Griffin *et al.*, 2015; Pallares *et al.*, 2015).

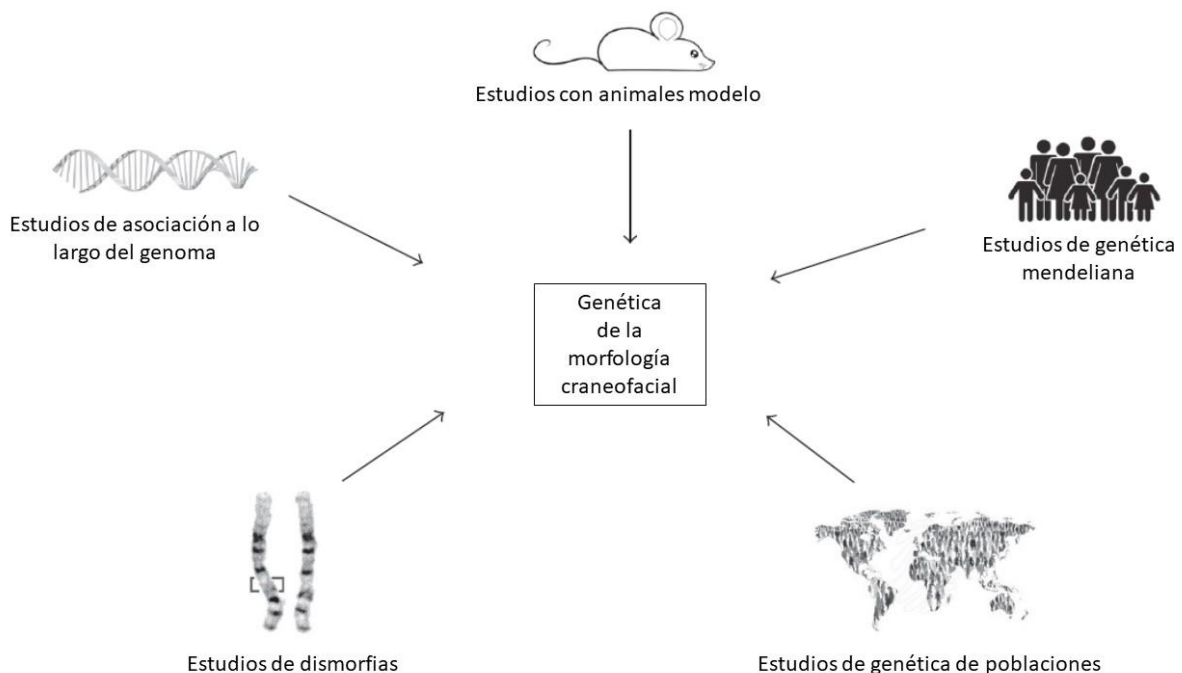


Figura 14. Las fuentes de información para investigar la etiología genética de la variación craneofacial (modificado de Claes *et al.*, 2016).

La segunda aproximación, como se mencionó previamente, es a través del estudio de enfermedades mendelianas, malformaciones congénitas y síndromes craneofaciales, lo cual ha contribuido con la estimación de que aproximadamente el 32% de los desórdenes mendelianos están asociados a características craneofaciales atípicas (Jones et al., 2013) y mediante estrategias de análisis de ligamiento y genes candidato se ha podido asociar mutaciones a síndromes mendelianos con patrones atípicos de desarrollo craneofacial (Kolar et al., 1987; Ward et al., 2000; Jones et al., 2013). Mediante estas aproximaciones se ha identificado el gen PAX3 como un gen que puede afectar significativamente el rango típico de variación facial en el área nasal (Jones *et al.*, 2013) y mutaciones en dicho gen se han asociado al síndrome de *Waardenburg* que presenta hipertelorismo y crestas nasales anchas (Claes and Shriver, 2016). Por otra parte el estudio del labio leporino no sindrómico con o sin paladar hendido (NSCL/P) parece tener una etiología multifactorial que involucra factores ambientales y genéticos (GREM1 y CCDC26) (Claes and Shriver, 2016). Por último, la craneosinostosis ha sido uno de los síndromes más estudiados respecto a la arquitectura genética del desarrollo del cráneo que ocurre debido al cierre prematuro de las suturas craneales y puede ser reconocido por una forma anormal del cráneo en recién nacidos (Sharma et al., 2013; Twigg et al., 2013; Hamm and Robin, 2015).

Estas aproximaciones son importantes ya que los genes o regiones genómicas involucradas en patrones de desarrollo craneofacial atípico también podrían estar involucradas en variación craneofacial típica de la población. En última instancia, esta aproximación será una herramienta clave para identificar los genes o grupos de genes que afectan la morfología craneofacial, aunque la mayor limitante es

encontrar gente con el mismo fenotipo craneofacial para llevar a cabo estudios de gen-fenotipo.

2.1 Estudios de asociación a nivel del genoma

En la última década, los estudios de asociación a nivel del genoma (*genome-wide association studies*) (Figura 15) han permitido analizar miles de variantes genéticas en grandes grupos de individuos que presentan tanto morfología craneofacial normal como diferentes síndromes y/o malformaciones congénitas con el fin de identificar asociaciones estadísticamente significativas entre variantes genéticas y fenotipos cualitativos y cuantitativos. En este sentido, recientemente se han publicado investigaciones enfocadas en identificar las bases genéticas de la variación craneofacial y los fenotipos faciales con el fin de contribuir a estudios de identificación forense al igual que asociaciones con distintos componentes de ancestría genética. El primero identificó variantes en los genes *PRDM16*, *TP63*, *C5orf5N*, *COL17A1*, y *PAX3* asociados a variación en morfología craneofacial en europeos (Liu *et al.*, 2012) y en población latinoamericana se identificaron asociaciones entre morfología craneofacial y los genes *EDAR*, *DCHS2*, *RUNX2*, and *GLI3* y replicaron la asociación previa del gen *PAX3* (Adhikari *et al.*, 2016). Por otra parte, en población estadounidense con ancestría europea se identificaron seis regiones asociadas con rasgos faciales variables en las cuales se encuentran los genes *MAFB*, *PAX9*, *MIPOL1*, *ALX3*, *HDAC8*, y *PAX1* que se sabe están asociados al desarrollo craneofacial y además replicaron la correlación previamente reportada de los genes *CACNA2D3* Y *PRDM16* y *PAX3* (Shaffer *et al.*, 2016). Por último, un

GWAS en niños africanos identificó una asociación con los genes *SCH1P1* y *PDE8A* y forma y tamaño facial (Cole *et al.*, 2016). En cuanto a GWAS en individuos con malformaciones o enfermedades encontramos que se han establecido asociaciones entre variantes cercanas a los genes *PAX7*, *FGFR2* y *NOG* y tríos con presencia de labio leporino y paladar hendido (Leslie *et al.*, 2015).

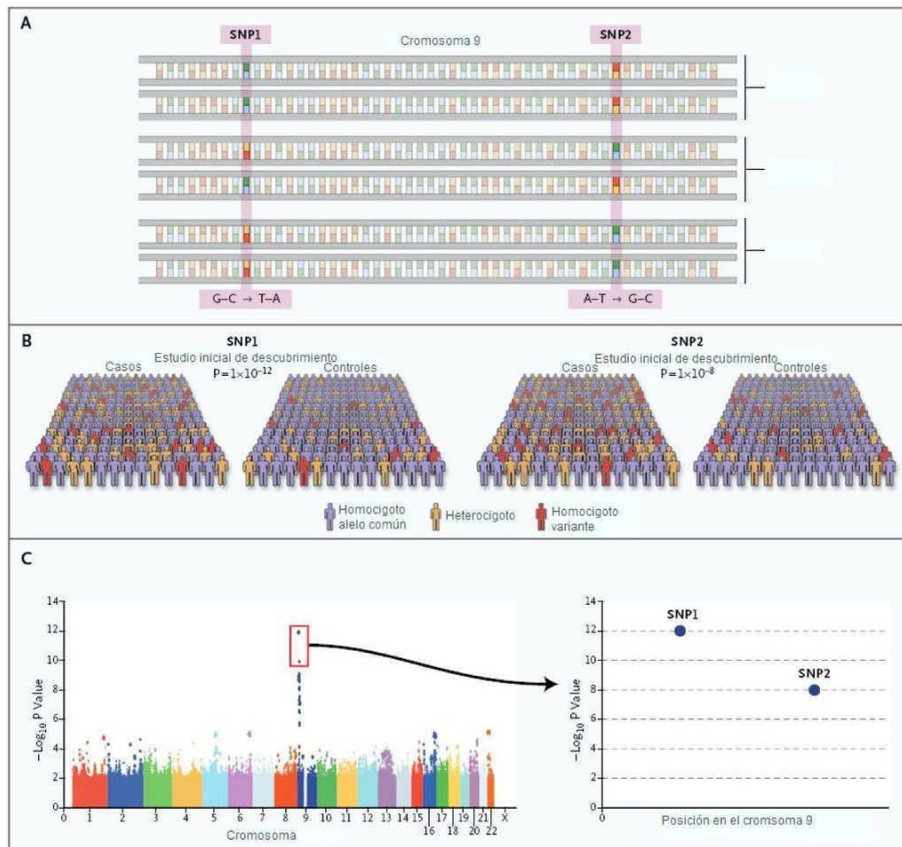


Figura 15. Esquema de un estudio de asociación a nivel del genoma (gwas). Diseño basado en miles de SNPs (A) analizados en casos y controles (B) con el fin de establecer asociaciones estadísticamente significativas entre fenotipos y genotipos (C).

Ahora bien, la complejidad del estudio del componente genético de la arquitectura craneofacial no sólo tiene que ver con que genes están involucrados en la morfogénesis o variación de los fenotipos que conforman al cráneo, una segunda capa tiene que ver con la regulación a diferentes niveles y durante diferentes

estadios del proceso de crecimiento y desarrollo que pueden estar ligados a variación en el número de copias debido a deleciones y duplicaciones que se ha evidenciado que no necesariamente tienen efectos contrarios (Hammond *et al.*, 2014) lo que resalta la importancia del papel de las interacciones entre variación genética, influencia ambiental, ruido del desarrollo y epigenética para la morfología craneofacial normal (Nuzhdin *et al.*, 2012).

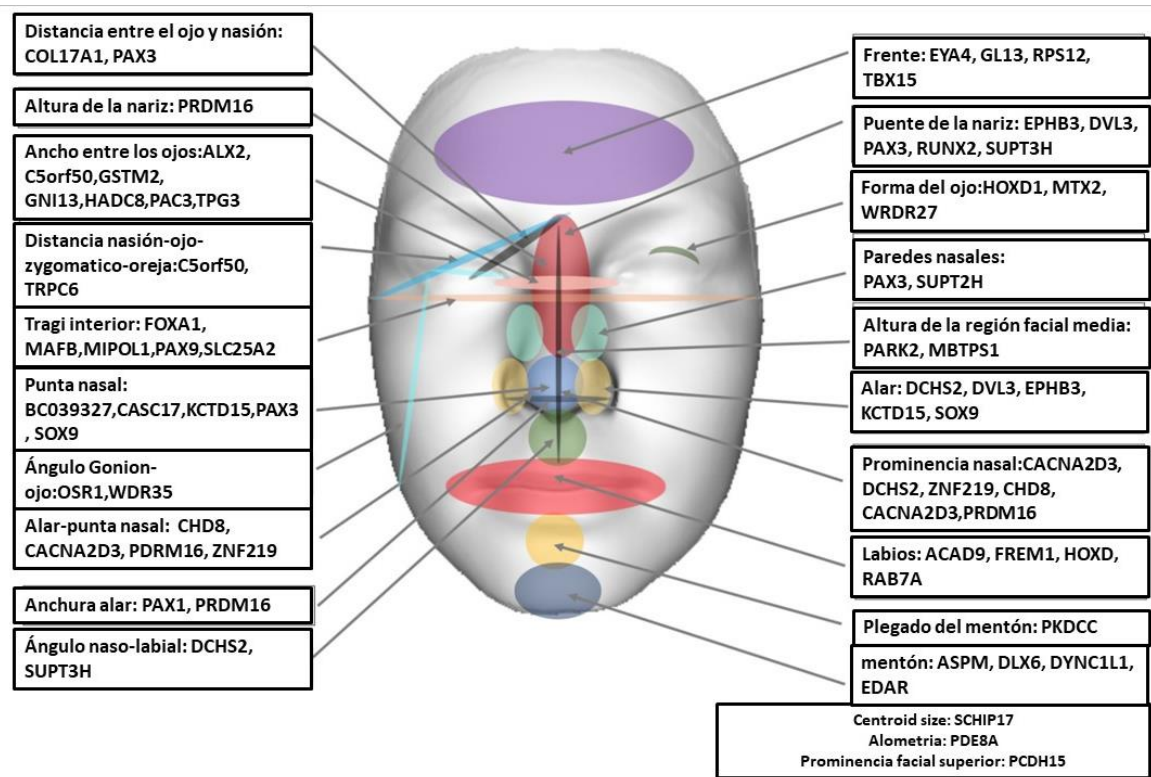


Figura 16. Genes asociados a regiones faciales particulares en poblaciones con morfología normal (Richmond *et al.*, 2018).

Como se puede apreciar en la Figura 16, el avance en la identificación de genes asociados a la morfogénesis y variación craneofacial ha sido grande en las últimas décadas y ha permitido replantear y refinar la manera en que se conciben y se analizan los fenotipos craneofaciales normales al igual que su variación. Otra

ventaja ha sido el desarrollo de tecnologías digitales que permiten capturar la complejidad de la morfología craneofacial humana y analizarla a través de aproximaciones de morfometría geométrica en dos y tres dimensiones que permiten análisis más robustos de la heredabilidad de los fenotipos craneofaciales (Djordjevic et al., 2016), la evolución craneofacial y su variación entre poblaciones y especies al igual que la identificación del efecto local de las variantes genéticas previamente reportadas (Li et al., 2019) que están contribuyendo al desarrollo y avance en cuanto a diagnósticos, tratamientos y aplicaciones forenses que tengan como base la relación entre los determinantes genéticos de la variación craneofacial normal (Roosenboom et al., 2016).

En última instancia es probable que se continúen identificando genes de gran importancia y peso para la arquitectura genética al igual que variantes que ejerzan un pequeño efecto en conjunto en la morfología craneofacial mediados a través de interacciones gen-gen, gen-ambiente y presiones mecánicas debido al proceso de crecimiento y desarrollo que de manera integrada juegan un papel importante para determinar la morfogénesis craneofacial y su variación observada.

Ahora bien, estas estrategias basadas en GWAS son muy poderosas pero requieren de tamaños de muestra muy grandes al igual que un número considerable de polimorfismos a analizar lo que los hace bastante difíciles de llevar a cabo, por otra parte, debido a la complejidad del proceso de crecimiento craneofacial, dichas aproximaciones puede que no logren capturar las asociaciones entre genes que juegan papeles importantes en la morfogénesis de estructuras óseas debido a que su variación está influenciada por los procesos epigenéticos de interacción entre las

llamadas matrices funcionales integradas que interactúan y se estructuran conforme el cráneo crece y se desarrolla (Lieberman, 2011b).

Bajo esta perspectiva, el gen receptor de la hormona del crecimiento (GHR) es de interés ya que previamente se han descrito asociaciones a la morfología del tercio medio y tercio inferior craneofacial lo que lo hace un candidato a investigar diferentes aspectos de su papel respecto a la variación craneofacial en el contexto de los estudios de integración morfológica y modularidad. En conjunto con una aproximación de morfometría geométrica dicho análisis permitirá abordar el impacto de polimorfismos en la morfología al igual que en el grado y magnitud de la integración morfológica y modularidad craneofacial.

2.2 El gen receptor de la hormona del crecimiento (GHR)

El gen receptor de la hormona del crecimiento (*GHR* por sus siglas en inglés) está localizado en el brazo corto del cromosoma cinco (5p13.1-p12) y codifica una proteína que consiste en un dominio extracelular compuesto por 246 aminoácidos, un solo dominio transmembranal y un dominio citoplasmático y contiene nueve exones codificantes para el receptor transmembranal al igual que varios exones adicionales en la región no transcrita en el extremo 5' que abarcan un total de al menos 87 kilobases (Godowski *et al.*, 1989).

En humanos se han identificado dos isoformas comunes, la primera es en su extensión completa y conocida como *GHR-flGHR* (*Full Length Growth Hormone Receptor* por sus siglas en inglés) y la segunda es una versión únicamente identificada en nuestra especie que se caracteriza por ser corta producto del

mecanismo de *splicing* alternativo que ocasiona la deleción del exón 3 que tiene como consecuencia la pérdida de 22 aminoácidos dentro del domino N terminal del receptor del gen y la cual es conocida como d3-GHR(*deletion of exon 3 of the Growth Hormone Receptor gene*, por sus siglas en inglés)(Pantel et al., 2000; Grulich-henn et al., 2003).

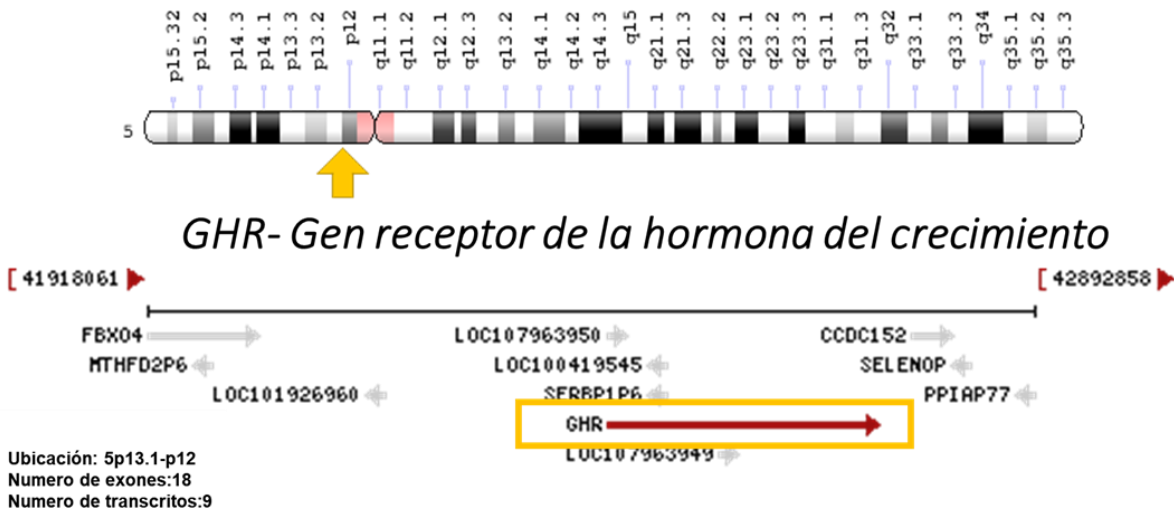


Figura 17. Contexto genómico del gen GHR (modificado de la página NCBI-gene).

Según la página *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM por sus siglas en inglés) que funge como el compendio de genes humanos y sus caracteres mendelianos asociados, la función del gen *GHR* es; unir moléculas activas de la hormona del crecimiento (codificadas por el gen *GH¹*) a su receptor transmembranal

¹ La hormona del crecimiento (GH por sus siglas en inglés) juega un papel fundamental en la regulación del crecimiento durante la niñez y la adolescencia y también regula el metabolismo a través de la unión de la hormona de crecimiento con su receptor transmembranal, que esta codificado por el gen GHR (Piwien-Pilipuk et al., 2002).

con el fin de provocar una dimerización y así activar la vía de transducción de señal intracelular que conduce a la síntesis y secreción del factor de crecimiento tipo ínsula I (codificada por el gen *IGF1*). En el plasma, dicha molécula se une al receptor soluble de *IGF1* (codificado por el gen *IGF1R*). En las células diana, este complejo activa las vías de transducción de señales que resultan en las respuestas miogénicas y anabólicas que conducen al crecimiento (<https://www.omim.org/entry/600946>).

De manera específica, la regulación de la síntesis de hormona de crecimiento está modulada por una familia de genes que incluye a los factores de transcripción *PROP1*(factor de transcripción de homeo-dominio), *PIT1*(factor de transcripción específico pituitario 1) que regulan la diferenciación de las células pituitarias en somatotrofos los cuales sintetizan y liberan hormona de crecimiento al igual que los genes *GHRH* (factor de liberación de hormonas de crecimiento) y *GHRHR* (receptor del factor de liberación de hormonas de crecimiento) que están involucrados en la cascada de pre síntesis de hormona del crecimiento que se almacena en gránulos secretorios. Subsecuente a la unión de hormona del crecimiento a dos receptores de membrana de hormona de crecimiento (*GHR*), provoca una señal para comenzar la producción del factor de crecimiento tipo ínsula 1 (*IGF1*) que en conjunto con su receptor (*IGF1R*) sintetizan productos que estimulan el crecimiento de varios tejidos incluyendo huesos y músculos(Figura 19) (Ascenzi et al., 2019; Lui et al., 2019; Moore et al., 2019; Paul et al., 2019).

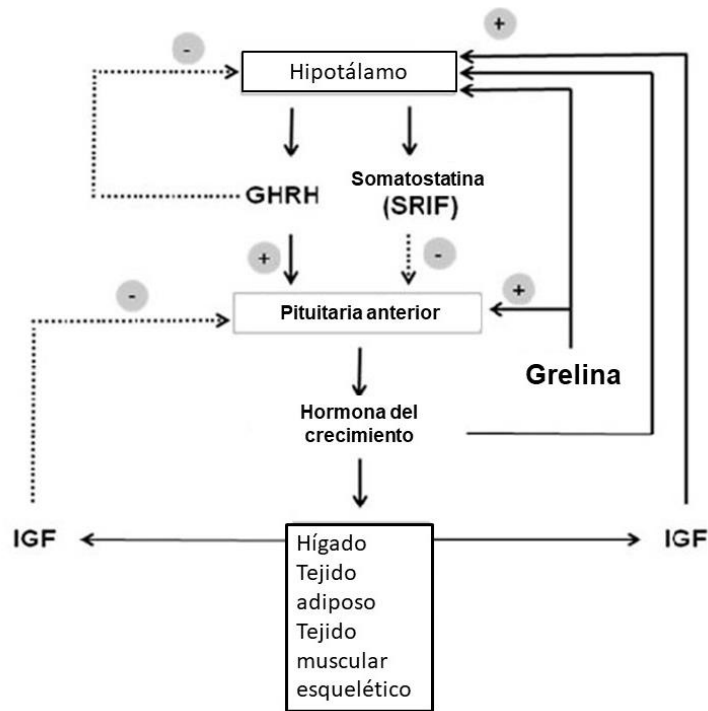


Figura 18. Esquema de la regulación de la secreción de la hormona del crecimiento (*GH*) y los genes y tejidos involucrados (Chaves et al., 2013).

En cuanto a su distribución y frecuencia *Stallings-Mann* y colaboradores (Stallings-Mann et al., 1996) reportan una frecuencia de 10% de homocigotos para la *d3-GHR* lo que sugiere que la alta frecuencia de esta delección esté en desequilibrio de ligamiento con otras variantes que involucren interacciones con algún fenotipo clínico, lo cual llevaría a tener una ventaja selectiva bajo algunas circunstancias y concluyen su investigación sugiriendo que se debería explorar la posible correlación del polimorfismo *d3-GHR* con la variación de otros fenotipos asociados al gen *GHR* (Ludwiczak, Klingert, & Rorman, 1996: 12399).

la respuesta a la hormona de crecimiento. En este sentido encontramos que el síndrome de insensibilidad de la hormona del crecimiento el cual recibe el nombre de síndrome de Laron se caracteriza por ocasionar un retardo en la maduración esquelética desde la gestación dentro del útero y posteriormente ocasiona un lento progreso que se refleja en el cierre del cartílago de la epífisis de los huesos largos a temprana edad. Esto impacta la estatura total en niñas y niños y en el esqueleto craneofacial encontramos subdesarrollo del esfenoides, la mandíbula y la región frontonasal acompañadas de un cierre tardío de las suturas del cráneo (Figura 21) (Scharf and Laron, 1972; Konfino et al., 1975; Le Roith, 1997). El síndrome se definió a partir de la clonación del gen por *Leung* y colaboradores en 1987 y posteriormente con su completa caracterización en 1989 y la implementación de análisis por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) que permitió comenzar a identificar mutaciones en pacientes con los fenotipos característicos del síndrome (Laron, 2004). En la actualidad se han asociado 52 mutaciones en diferentes poblaciones y familias con evidencia de consanguinidad que van desde deleciones de los exones que codifican el dominio extracelular del gen (Godowski *et al.*, 1989) hasta el actual repertorio que consiste en otras deleciones de exones, mutaciones sin sentido "*nonsense*" y de marco de lectura, así como de *splicing* y mutaciones con cambio de sentido o "*missense*" dentro de exones e intrones (Baumann *et al.*, 1987; Daughaday and Trivedi, 1987; Amselem *et al.*, 1989; Ayling *et al.*, 1997; viva Silbergeld *et al.*, 1997; lida *et al.*, 1998; Shevah *et al.*, 2002; Laron, 2003).

Un punto de interés que resalta del repertorio de mutaciones reportadas en el gen *GHR* es que, a pesar de que existen diferentes mutaciones reportadas, parece ser

que la mayoría del impacto en la morfología craneofacial está asociada a fallas en la ruta de señalización de la hormona del crecimiento, lo que provoca una ruptura de la ruta normal de señalización del eje *IFG-1 - GH - GHR*.

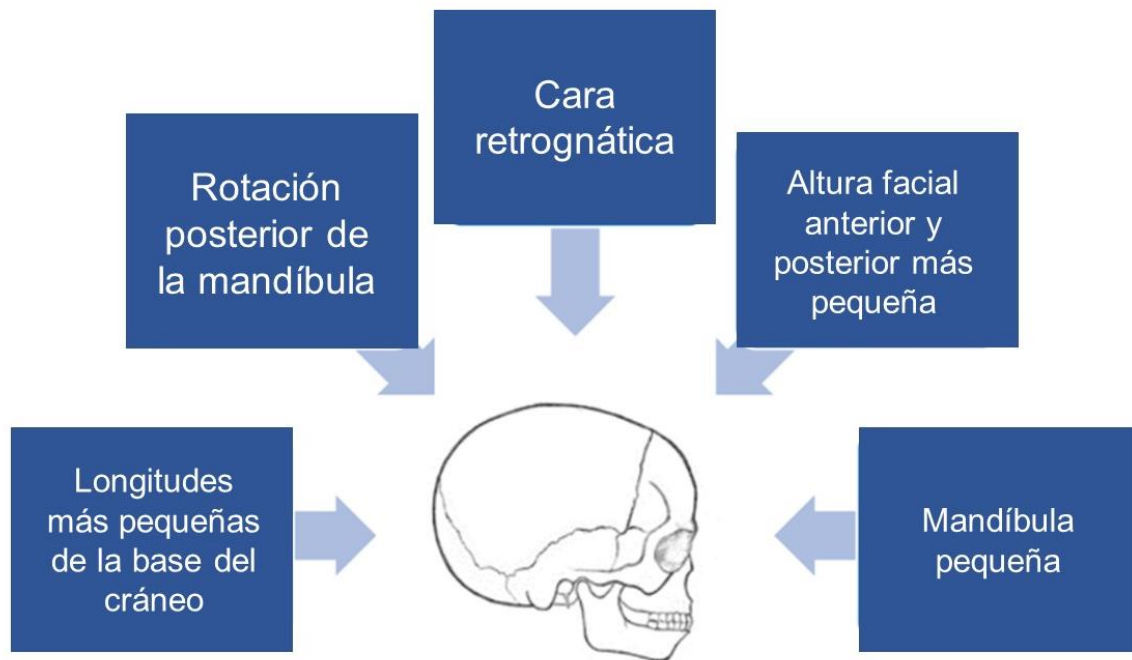


Figura 20. Características craneofaciales asociadas a estatura baja, independientemente del desorden de origen lo que sugiere una complejidad en el patrón y magnitud de crecimiento debido a síndromes asociados con mutaciones o deficiencia del gen *GHR* (Wójcik and Beń-Skowronek, 2020).

En una revisión del estado del arte del síndrome de Laron (2004) se enfatizó que los casos estudiados de este síndrome han permitido explorar la fisiología y farmacología del gen *IGF1* y muchos aspectos complejos de su interrelación con el gen *GH* en términos de su deficiencia y diagnóstico (Zhou *et al.*, 1997). Pero quedan preguntas importantes respecto a familias en donde se encuentran fenotipos normales en individuos heterocigotos para alguna mutación o al contrario, casos en donde hay doble heterocigotos y también en donde hay genotipos heterocigotos en

un alelo asociados con la presencia de polimorfismos que complejizan la asociación molecular de mutaciones del gen *GHR* al síndrome de Laron(Laron, 2004). Por otra parte, los estudios de las bases moleculares del síndrome de Laron sentaron la base de una serie de investigaciones respecto del papel de mutaciones en el gen *GHR* y la morfología craneofacial del tercio medio y tercio inferior haciendo particular énfasis en la estructura mandibular, su desarrollo y la variación en grados de oclusión.

2.3 Variantes del gen GHR y su asociación con la morfología craneofacial

Una de las líneas de investigación que ha tomado fuerza en las últimas dos décadas se ha centrado en investigar el papel del gen *GHR* y su variación genética, principalmente en el exón 10 respecto de la morfología craneofacial, pero particularmente de los segmentos medio y tercio inferior, es decir, el maxilar y la mandíbula. El objetivo se ha centrado en investigar la relación entre variación morfológica maxilofacial y los polimorfismos del gen *GHR* debido a la relación que existe entre el crecimiento facial horizontal que se ha asociado a la expresión del gen *GHR* en regiones de cartílago, como son los cóndilos mandibulares. Las variantes estudiadas dentro de esta línea de investigación y sus cambios asociados se aprecian en la Tabla 1. La información de la posición, su cambio de aminoácido y el cambio asociado se obtuvo de la base de datos *ENSEMBL* y 1000 genomas. Por otra parte, para evaluar el efecto funcional de cada polimorfismo se utilizó la herramienta web de *Variant Effect Predictor* (McLaren *et al.*, 2016).

Tabla 1. Información del efecto de los polimorfismos del gen GHR estudiados.

SNP de referencia	Posición	Cambio de aminoácido	Cambio asociado	Efecto funcional
rs6176	S473S	Serotonina a Serotonina	Variante sinónima Variante sin sentido	Benigna
rs6180	I526L	Isoleucina a Leucina		Benigna
rs6182	C422F	Cisteína a Fenilalanina	Variante sin sentido Variante sin sentido	Benigna
rs6183	P477T	Prolina a Treonina	Variante sin sentido	Benigna
rs6184	P561T	Prolina a Treonina		Benigna

El primer trabajo fue llevado a cabo por *Tetsutaro Yamaguchi* y colaboradores (2001) y tuvo como objetivo evaluar cuantitativamente la relación entre la morfología craneofacial y tres variantes genéticas del gen *GHR*; Pro477Thr (P477T), Ile526Leu (I526L) y Pro561Thr (P561T) en población japonesa. Estas mutaciones son de interés ya que los polimorfismos P561T (rs6184) y I526L (rs6180) presentan una alta frecuencia en las poblaciones del sureste asiático mientras que P477T (rs6183) se encuentra en baja frecuencia en la base de datos de 1000 genomas (Figura 21) y además se encuentran en los exones asociados al dominio citoplasmático del gen y, por lo tanto, son fuertes candidatos para estudiar el papel de variaciones en este dominio respecto a fenotipos como la estatura idiopática y el síndrome de Laron. La hipótesis planteada consistió en que la morfología craneofacial observada pueden ser producto de las mutaciones en el gen *GHR* en la población japonesa y por lo tanto se evaluó cuantitativamente la morfología en una muestra de 50 mujeres y 50 hombres mediante cinco medidas en los trazos laterales de cefalogramas y dos

genotipos por ensayo de restricción (SS; sin P561T y Ss; heterocigotos para P561T) (Yamaguchi *et al.*, 2001a).

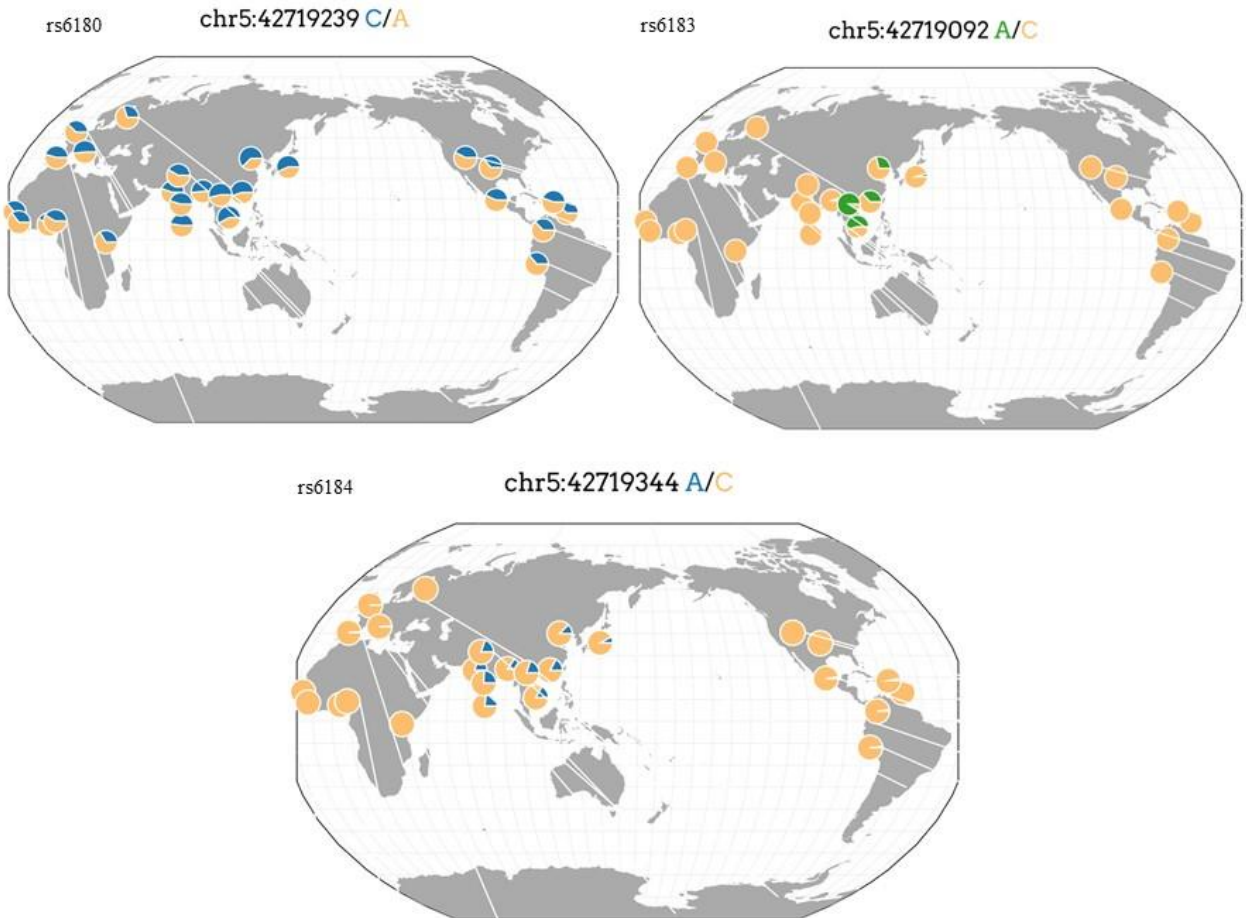


Figura 21. Mapa mundial de las frecuencias alélicas de los polimorfismos rs6180, rs6183 y rs6184 del gen GHR en las poblaciones muestreadas en 1000 genomas. Las gráficas de pastel se encuentran en la ubicación geográfica de las muestras analizadas.

Los estadísticos asociaron al genotipo SS a una medida significativamente más grande de la rama mandibular (Co-Go, $p=0.0181$) respecto a los individuos Ss. En su discusión, los autores resaltan el papel de la hormona del crecimiento en la morfología de la mandíbula debido al crecimiento mediado por el cartílago vía el cóndilo mandibular y la evidencia de que tratamientos de hormona del crecimiento

tienen un marcado efecto en el cóndilo mandibular, los cuales presentan receptores de hormona del crecimiento (Lewinson et al., 1994; Van Erum et al., 1998). Los autores enfatizan la relación de la variante P561T y la longitud maxilar y señalan que esta variante puede estar teniendo un papel regulador del gen *GHR* o posiblemente en desequilibrio de ligamiento con la variante reguladora sin identificar o con otro gen que también tiene un efecto pleiotrópico sobre la morfogénesis mandibular, en última instancia señalan que la variante estudiada es un candidato a marcador genético para la morfología mandibular en población japonesa (Yamaguchi et al., 2001b).

Subsecuentemente Zhou y colaboradores (2005) llevaron a cabo un estudio similar en población Han de China en el cual se estudiaron dos muestras, una morfológicamente normal que llamaron aleatoriamente seleccionada (95 individuos) y otra del Hospital Somatológico de Beijín que se caracterizó por incluir individuos con distinta altura de la rama mandibular (dos desviaciones estándar hacia abajo, y dos hacia arriba de la media) y subsecuentemente se secuenció el gen *GHR* y únicamente se analizaron cuatro polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) dentro del exón 10 (G168G, C422F, I526L, y P561T) como marcadores genéticos a correlacionar con 16 medidas en cefalogramas laterales. Los resultados asociaron las medidas de *Co-Go*, *Ar-Go* y *S-Go* (Figura 22) con los diferentes genotipos del polimorfismo I526L (sustitución de leucina por isoleucina) siendo los individuos con genotipo CC los que presentaron longitudes de la rama mandibular más grandes comparados con los otros dos genotipos (AC y AA). Por último, el análisis de ligamiento mostró que tres de los cuatro polimorfismos (C422F, I526L y P561T) están en completo ligamiento en la población han de china, es decir, se heredan en

bloque, y además en la población estudiada explicaría la baja diversidad de haplotipos observada en esta región del genoma. Los autores sugieren que la asociación observada entre los genotipos del polimorfismo I526L a diferencias en la altura de la rama mandibular entre los grupos normal y extremo podrían estar relacionadas a las diferencias morfológicas debido a que los cuatro polimorfismos estudiados se encuentran en la región terminal C-184 la cual está asociada a la transducción en el dominio intracelular del gen *GHR*. Esto significa que los polimorfismos podrían estar afectando la transducción del eje GH-GHR-IGF-1, lo cual impacta en la expresión del gen IGF-1 (Zhou *et al.*, 2005).

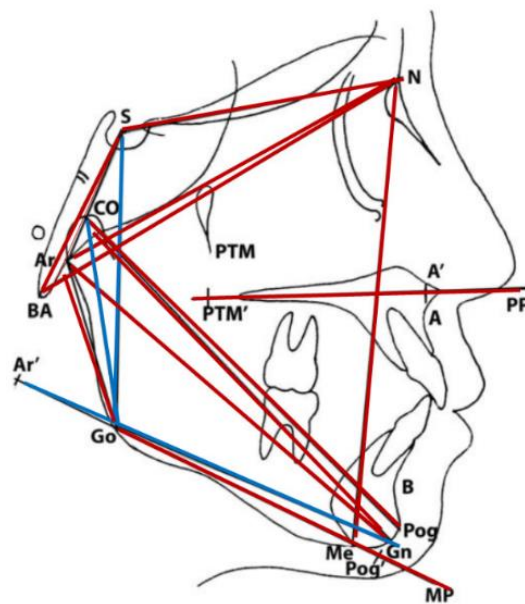


Figura 22. Medidas en cefalogramas laterales estudiadas por Zhou y colaboradores (2005) y subsecuentemente replicadas por Tomoyasu (2009).

En términos morfológicos esto se refleja en el crecimiento en cartílago y por lo tanto en un crecimiento vertical de la rama mandibular, al igual que la altura total y otras regiones que se vinculen a crecimiento a través de cartílago. Por último, enfatizan que esta complejidad podría explicar parcialmente las diferencias morfológicas

observadas entre la población estudiada y los japoneses y por qué no se replicó la asociación observada en el estudio previo aun cuando se identificaron como en bloque de ligamiento. Esto lleva a los autores a plantear que muy probablemente existan diferencias entre poblaciones en la morfogénesis de la rama mandibular mediadas por polimorfismos en el gen *GHR* y que dichos polimorfismos solo afectan el desarrollo longitudinal de la mandíbula (Zhou *et al.*, 2005).

rs6182

chr5:42718928 T/G

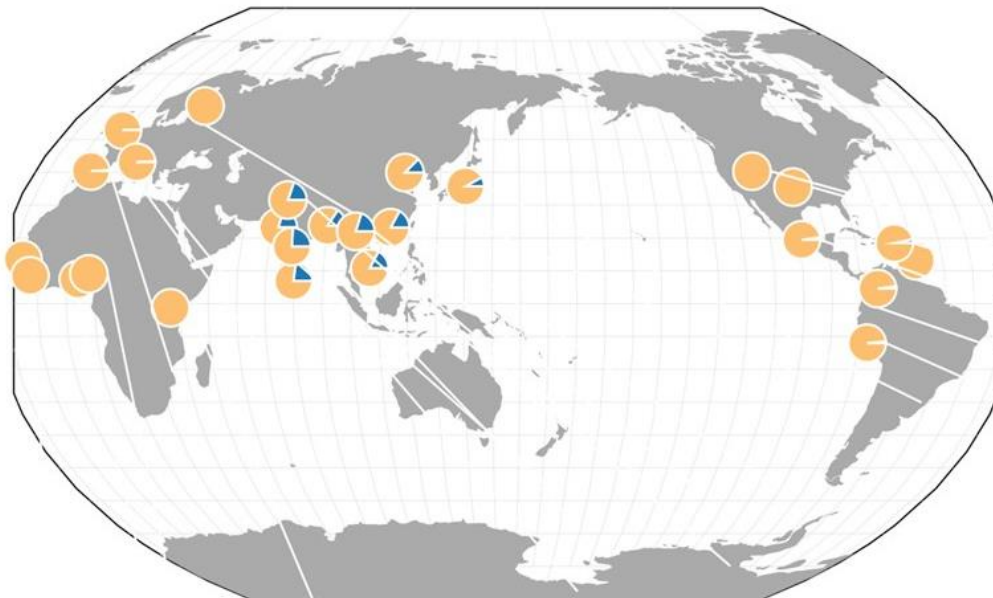


Figura 23. Mapa mundial de la frecuencia alélica del polimorfismo rs6182 del gen *GHR* en las poblaciones muestreadas en 1000 genomas. Las gráficas de pastel se encuentran en la ubicación geográfica de las muestras analizadas.

Como respuesta al trabajo de Zhou y colaboradores, Yoko Tomoyasu y colaboradores (2009) expandieron su trabajo inicial en población japonesa al retomar los hallazgos reportados en población Han de China y llevaron a cabo un estudio de asociación entre los polimorfismos I526L(rs6180), C422F (rs6182),

P477T(rs6183), P561T(rs6184) del exón 10 del gen *GHR* y cuatro medidas craneofaciales (*nación-sella*, *gnathion-condilion*, *pogonion-gonion*, *condilion-gonion*) en cefalogramas laterales una muestra mucho más grande de 167 sujetos japoneses, compuesta por 50 hombres y 117 mujeres de entre 20 y 49 años y 18 a 58 años respectivamente. Los resultados reportaron diferencias significativas en la altura de la rama mandibular asociados a genotipos de los polimorfismos P561T y C422F, en específico individuos con genotipo CC-/P561T y GG-/C422F tuvieron una altura mandibular significativamente mayor que aquellos con genotipos CA y GT respectivamente. Este resultado es relevante ya que al observar las frecuencias de los polimorfismos rs6182, rs6183 y rs6184 en 1000 genomas (Figuras 21 y 23) se puede observar que solo las poblaciones del sureste asiático presentan los alelos ancestral y derivado. Por otra parte, el análisis de haplotipos basado en los 5 polimorfismos arrojó que 2 haplotipos representan el 85% de los haplotipos estimados en el grupo japonés. El coeficiente D_0 para los dos *SNPs* fue cercano a 1, lo cual indica que están en un bloque de ligamiento único.

Tomoyasu y colaboradores postularon que el crecimiento mandibular depende en gran medida del crecimiento del cartílago el cual está influenciado de manera multifactorial por factores genéticos, nutricionales, la homeostasis, las hormonas y los factores de crecimiento y dentro de esta complejidad, el gen *GHR* parece tener un papel clave en el cartílago ya que afecta directamente su crecimiento y desarrollo vía su interacción con el gen *IGF1*. De manera relevante, las variantes asociadas a diferencias en la altura de la rama mandibular fueron la P561T y C422F aun cuando se analizó la variante I526L asociada en población *Han* de China. Los autores hipotetizan que el motivo de esta discrepancia sigue sin estar claro, y resaltan el

hecho de que las frecuencias alélicas parecen variar significativamente para los cinco polimorfismos entre poblaciones del mundo lo que sugiere una fuerte influencia de la historia poblacional reciente en cuanto a las diferencias craneofaciales asociadas a los distintos genotipos de los polimorfismos del gen *GHR* para cada grupo étnico estudiado (Tomoyasu *et al.*, 2009a).

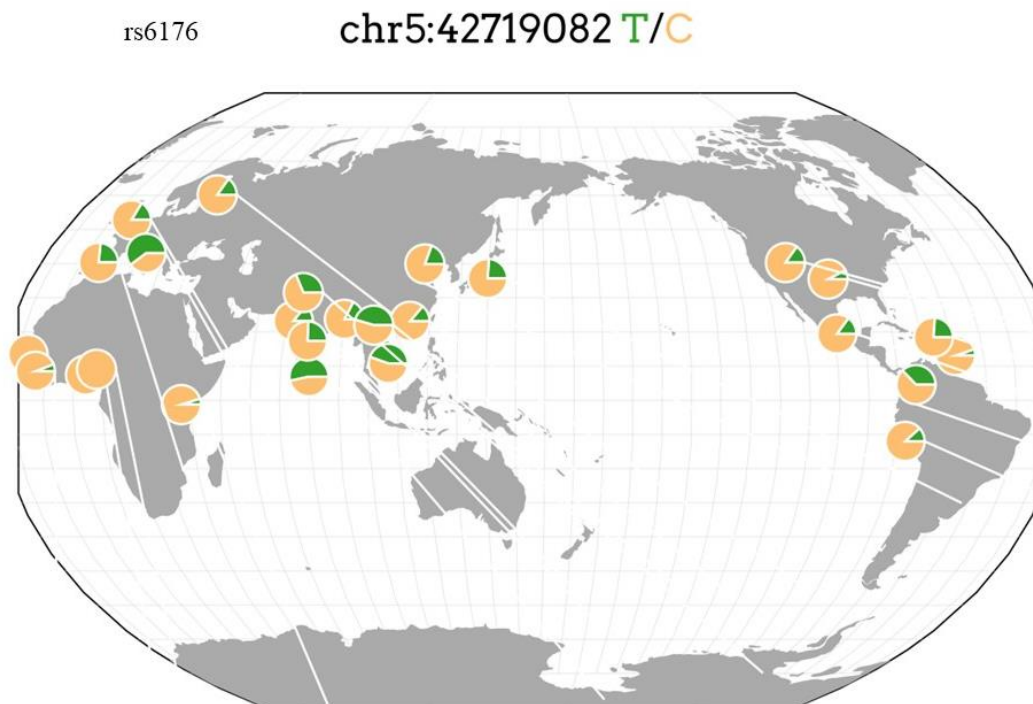


Figura 24. Mapa mundial de la frecuencia alélica del polimorfismo rs6176 del gen *GHR* en las poblaciones muestreadas en 1000 genomas. Las gráficas de pastel se encuentran en la ubicación geográfica de las muestras analizadas.

La discrepancia en asociación entre poblaciones del sureste asiático llevo a *Eun Hee Kang* y colaboradores (2009) a analizar los cinco polimorfismos del exón 10 en conjunto con la delección del exón 3 (*d3-GHR*) con el fin de investigar el posible papel de la delección y su contraparte *fl-GHR* (sin delección del exón 3) hipotetizando que la delección podría tener importantes implicaciones en la capacidad de respuesta de

la hormona del crecimiento en la estructura mandibular. La metodología consistió en el mismo protocolo de medidas en cefalogramas laterales al igual que la extracción y secuenciación de los polimorfismos del gen *GHR* implementados en los estudios previos en una muestra de 159 hombres y mujeres de entre 20 y 58 años.

Los resultados del análisis de asociación establecieron que sólo la altura de la rama mandibular (Co-Go) se correlacionó significativamente con las variantes P561T y C422F. El ligamiento, medido por el estadístico R^2 mostró un bloque en completo ligamiento entre los polimorfismos C422F y P561T (haplotipo-4) y en conjunto con otros tres haplotipos representan el 85% de la diversidad de la región en la población coreana. Dicho haplotipo muestra una diferencia significativa en la altura de la rama mandibular entre individuos que tenían un haplotipo-4 y otros sin haplotipo-4 ($p = 0.028$). Los autores enfatizan que el haplotipo-4 que contienen la delección en conjunto con los polimorfismos P561T y C422F fueron asociados significativamente a diferencias en la altura de la rama mandibular entre portadores y no portadores del haplotipo y resaltan que el crecimiento mandibular está influenciado por múltiples factores dentro de los cuales las mutaciones heterocigotas del gen *GHR* parecen tener un papel más o menos importante dependiendo del tipo de mutación y haplotipo de los individuos. Los autores concluyeron su trabajo discutiendo la asociación replicada respecto al trabajo en población japonesa pero no la de la población *Han* de china (el polimorfismo I526L) y argumentan que la razón de esta discordancia sigue siendo poco clara y podría deberse ya sea a una falta de análisis a nivel de haplotipos en poblaciones asiáticas o por otra parte que de verdad existan diferencias reales entre estas poblaciones lo que requiere de estudios

independientes en poblaciones alrededor del mundo para establecer la asociación entre la morfología craneofacial y los polimorfismos del gen *GHR* (Kang *et al.*, 2009b).

Bajo este escenario de incertidumbre se evidenció la necesidad de estudiar otras poblaciones del mundo con el fin de comprender cómo es que las variantes genéticas del exón 10 afectan la forma del tercio medio e inferior craneofacial en conjunción con factores ambientales y epigenéticos. Siguiendo esta premisa, *Mohamed Adel* en colaboración con el grupo de *Tetsutaro Yamaguchi* (2017) llevaron a cabo una investigación en población egipcia con el fin de aportar al complejo escenario en términos de variantes genéticas de los genes *GH*, *GHR* y *IGF-1* y factores ambientales al que parece estar sujeto la región del tercio medio-inferior orofacial. En esta investigación se enfatizó por primera vez la importancia de conocer la etnicidad de los individuos antes de seleccionar las variantes a estudiar debido a que las diferencias en historias poblacionales posiblemente afectan las frecuencias alélicas y de haplotipos entre poblaciones. Dicho esto, los autores señalan que la población egipcia es una población candidato a estudiar los alelos rs6180 (I526L) y rs6184 (P561T) previamente asociados en poblaciones del sureste asiático y explorar su asociación en una población que, hipotetizan, es morfológicamente distinta en términos craneofaciales al igual que en términos de factores ambientales. Los resultados mostraron que la frecuencia alélica menor de rs6184 (P561T) fue de 1.5% por lo que se excluyó del análisis y por otra parte respecto a los genotipos de la variante rs6180 (I526L) no se encontró asociación con las medidas establecidas craneofaciales en el estudio. Los autores concluyeron su investigación enfatizando las limitaciones de usar cefalogramas laterales y las

ventajas de transitar hacia metodologías en tres dimensiones para explorar la complejidad de la morfología mandibular, y aunque no se replicaron las asociaciones previas, enfatizaron que se requieren más investigaciones para identificar los factores genéticos que afectan la morfogénesis de la mandíbula en población egipcia y enfatizan la complejidad de la arquitectura genética craneofacial humana dentro y entre poblaciones (Adel *et al.*, 2017). Siguiendo esta línea de investigación, Sergio Iván Tobón-Arroyave y colaboradores (2017) llevaron a cabo un estudio de los polimorfismos rs6180 (I526L) y rs6184 (P561T) y su asociación con el perfil esquelético facial en población colombiana con diferentes clases de oclusión dependiendo de la relación maxila-mandíbula (Clase I, II y III) bajo la hipótesis de que estas diferencias morfológicas pueden estar influenciadas por polimorfismos en el gen *GHR* que estén influenciando el eje de expresión entre *GH-GHR* y *IFG-1*. Tras los análisis se encontró que solo el genotipo CA del polimorfismo rs6184 se asoció significativamente a la morfología Clase III de igual forma que se asoció el genotipo a una altura de la rama mandibular significativamente más grande respecto a los otros genotipos. Los autores señalan que los hallazgos reportados sugieren que la funcionalidad de estos *SNPs* puede depender de interacciones gen-gen y gen-ambiente que podrían estar afectando de manera directa o indirecta el desarrollo del perfil esquelético-facial, o, por otra parte, también existe la posibilidad de que otras variantes en el gen *GHR* o en ligamiento con el gen estarían siendo las responsables de las diferencias en la morfogénesis mandibular y/o craneofacial (Tobón-Arroyave *et al.*, 2018). Por otra parte, Takatoshi Nakawakia y colaboradores (2017) retomaron la observación de las limitaciones de las mediciones en cefalogramas laterales y llevaron a cabo una investigación de la morfología

mandibular y su relación con las variantes rs6180 (I544L) y rs6184 (P561T) argumentando que la complejidad de la estructura podría no estar bien representada por análisis en cefalogramas laterales en dos dimensiones y por lo tanto, mediante tomografías computarizadas de la mandíbula se podría acceder a una cercanía de la complejidad de esta estructura craneofacial y así establecer asociaciones más confiables.

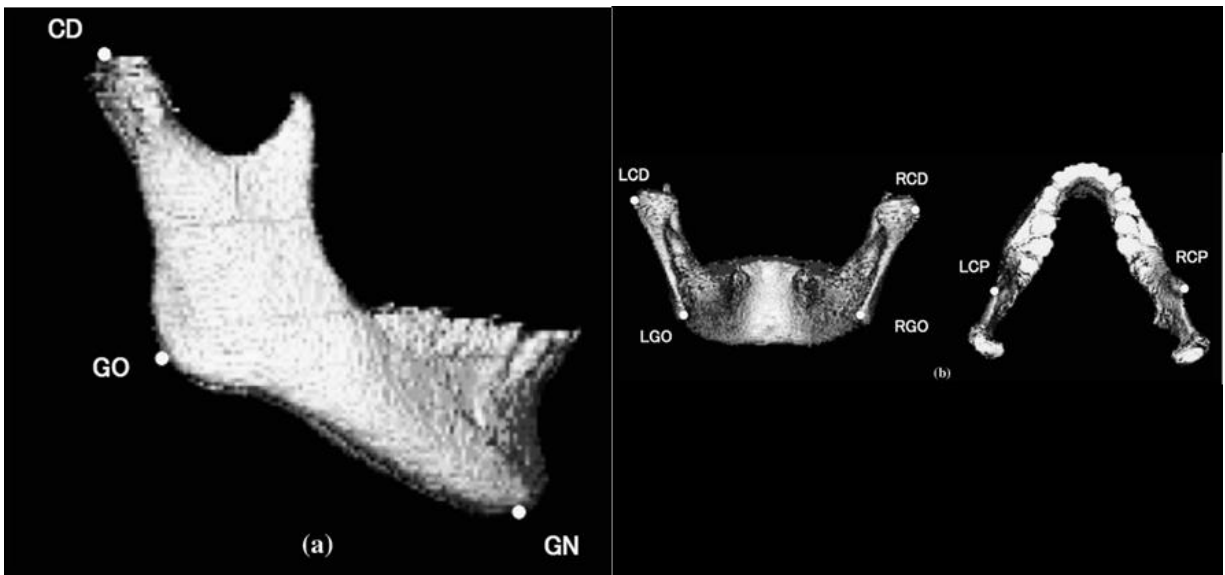


Figura 25. Landmarks anatómicos para las medidas mandibulares a partir de imágenes CBCT (*Cone Beam Computed Tomography* por sus siglas en inglés) (Nakawaki *et al.*, 2017).

Su aproximación analizó la asociación entre la morfología mandibular a partir de 178 tomografías (Figura 25) y su relación con los genotipos de las variantes rs6184 (P579T), rs6180 (I544L) del gen *GHR* en una población de individuos japoneses que resultó en que no se replicaran las asociaciones previamente reportadas para la altura de la rama mandibular y el P579T. Por otra parte, los autores señalan que, aunque hubo diferencias, estas fueron entre los procesos coronoides y la variante rs6180, lo cual no se había observado ya que dicha medida solo es posible mediante

el análisis tridimensional de la mandíbula. Los autores sugieren explorar otros genes que estén involucrados en la morfología craneofacial normal en la población general usando imágenes por resonancia magnética o escaneos laser para medir la morfología craneofacial con el fin de obtener resoluciones tridimensionales sin precedente que de manera clara y precisa mida el tejido blando y la morfología mandibular para así poder examinar la estructura en toda su complejidad (Nakawaki *et al.*, 2017).

Esta serie de investigaciones respecto al papel de las cinco variantes del gen *GHR* en la morfología craneofacial evidencian en primer lugar que los genotipos de los polimorfismos rs6180, rs6182 y rs6184 tienen un efecto en la altura de la rama mandibular (Tabla 2) y por otra parte, que existe una heterogeneidad entre las correlaciones debido a que no se replicaron sistemáticamente las asociaciones en las diferentes poblaciones estudiadas en el sureste asiático mientras que en población egipcia y colombiana no se identificaron asociaciones entre genotipos y altura de la rama mandibular. Esto sugiere que hay factores más allá de la variación genética del gen *GHR* que pueden tener un papel importante en la morfogénesis del tercio medio-inferior craneofacial. No obstante, es importante señalar que los tamaños de muestra en términos de número total y por sexos, los puntos, distancias y ángulos utilizados para capturar la morfología craneofacial, los criterios de agrupamiento de la muestra y la ruta de análisis varían entre los estudios presentados, lo cual podría estar influenciando la heterogeneidad observada entre las correlaciones.

Tabla 2. Características demográficas, variantes analizadas, metodología, medidas y resultados de los estudios de asociación entre morfología craneofacial y variantes del exón 10 del gen GHR.

Artículo	Población	N	Edad	rs	Medidas craneofaciales	Metodología	Resultados
GHR gene variant and mandibular height in the normal Japanese	Japonesa	50 mujeres	18 a 46 años	rs6184/P561T	Atura, long. de la base del cráneo, long. maxilar, long. de la rama mandibular, long. del cuerpo mandibular, long. mandibular total y long. mandibular total respecto a la altura.	Se analizó estadísticamente la diferencia en cada medición y los genotipos de la variante P561T con la prueba de Mann-Whitney.	La presencia de la variante P561T se correlaciona a una menor longitud de la rama mandibular y altura facial.
The GHR gene is associated with Mandibular Height in a Chinese Population	Chinos Han	95 individuos	20 a 35 años	rs6180/I526L rs6182/C422F rs6183/P477T rs6184/P561T	Altura, longitud maxilar, long. de la rama mandibular, long. del cuerpo mandibular, long. mandibular total.	Se analizó la diferencia en cada medición y entre los genotipos de los polimorfismos mediante una prueba t de muestra independiente y un análisis de varianza unidireccional (ANOVA).	El genotipo CC de I526L se correlaciona a rama mandibular más larga respecto a los otros genotipos.
Further evidence for an association between mandibular height and the GHR gene in a Japanese population	Japonesa	117 mujeres	20 a 49 años	rs6180/I526L rs6182/C422F	Long. de la base del cráneo, long. maxilar, long. mandibular total, long. del cuerpo mandibular, altura de la rama mandibular y altura.	La asociación entre 5 polimorfismos y las mediciones craneofaciales se analizaron mediante la prueba de Mann-Whitney.	El genotipo CC (P561T) y GG del polimorfismo (C422F) se asociaron a rama mandibular más larga respecto a los otros genotipos.
Association of the GHR gene polymorphisms with mandibular height in a Korean Population	Koreana	100 hombres	20 a 49 años	d3-GHR	Altura, long. de la base del cráneo, long. maxilar, long. mandibular total, long. del cuerpo mandibular y altura de la rama mandibular	Las asociaciones entre los 6 polimorfismos y las mediciones craneofaciales se analizaron mediante la prueba de Mann-Whitney y subsecuentemente se llevó a cabo una ANOVA de un factor para los haplotipos.	El genotipo CC del polimorfismo P561T y el GG de C422F se asociaron a rama mandibular más larga respecto a los otros genotipos.
Association of GHR variants with Mandibular form in an Egyptian Population.	Egipcios	92 hombres	18 a 55 años	rs6182/C422F	Diecisiete puntos craneales y diecinueve medidas entre los puntos para evaluar la forma mandibular	Se utilizó un análisis de regresión para explorar la asociación entre las variantes de rs6180 y las medidas de la forma mandibular	Ningún genotipo se asoció a morfología mandibular
Association analysis between rs6184 and rs6180 polymorphisms of GHR gene regarding skeletal-facial profile in a Colombian population	Colombianos	123 hombres	15 a 53 años	rs6182/C422F	Once medidas de distancia y ángulos entre puntos craneofaciales utilizados para establecer tres grupos con morfología facial inferior diferente.	Se aplicó una ANOVA y pruebas T no-pareadas para determinar las diferencias significativas entre medidas y genotipos y entre los tres grupos.	El genotipo CA de P561T y el genotipo AA del gen I526L se asociaron a la Clase III facial.
		180 mujeres		rs6184/P561T			

Por lo tanto, resulta relevante investigar estas asociaciones en otras poblaciones para explorar el papel de las diferencias en frecuencias alélicas y de genotipos con la variación en la morfología craneofacial adoptando una perspectiva teórica metodológica que explore el papel de las mutaciones respecto a los patrones y la magnitud de integración morfológica y modularidad en el tercio medio y el tercio inferior craneofacial con el fin de contribuir a comprender la relación entre los polimorfismos del gen *GHR* y la morfogénesis craneofacial.

Capítulo III. Materiales y Metodología

Este trabajo investigó el papel de cinco variantes del gen *GHR* y la asociación de sus respectivos genotipos con diferencias en la forma craneofacial y subsecuentemente del efecto en los patrones e intensidad de la integración morfológica bajo una hipótesis de tres módulos anatómicos craneofaciales; el facial, neuronal y mandibular. Como se mencionó previamente, el cráneo humano puede ser pensado como un conjunto de fenotipos que pueden ser descompuestos en módulos semindependientes basándose en hipótesis de su origen, como son; su origen compartido o distinto durante el proceso de crecimiento y desarrollo, funcionales a partir de interacciones mecánicas o espaciales, o basadas en el efecto genético compartido debido al ligamiento genético o pleiotropía.

Siguiendo a *Hünemeier* y colaboradores (2004) se sigue la hipótesis de origen del tejido que predice que estructuras que derivan de la cresta neural deberían covariar mientras que las que derivan del mesodermo paraxial deberían covariar entre ellas. Su trabajo siguió las divisiones propuestas por (Jiang et al., 2002) en las cuales el hueso frontal, el viscerocráneo y las regiones escamosas (*squamous*) derivan de la cresta neural y las porciones no escamosas (*non-squamous*) de la base craneal y la bóveda craneal son de origen mesodérmico. Este punto es relevante para estudios de IM y modularidad ya que los autores resaltan, y como ya se mencionó previamente, que las regiones crecen y se desarrollan durante diferentes periodos ontogenéticos por lo que su desarrollo estará regulado por diferentes factores genéticos, ambientales y epigenéticos.

Brevemente recapitulamos, siguiendo a los autores, el rostro y la mandíbula crecen durante un periodo mucho más extenso, mientras que el cerebro finaliza su crecimiento tempranamente. Estas diferencias en la trayectoria de crecimiento y desarrollo entre el cráneo y el esqueleto facial y el neurocráneo sugieren que existen influencias e interacciones funcionales dentro de dichas regiones del cráneo, es decir, la morfología de las unidades anatómicas que conforman el esqueleto craneofacial se desarrollan y responden a interacciones con los tejidos blandos asociados a aspectos funcionales como son; el visual, olfativo, masticatorio, mientras que el neurocráneo principalmente responde al sistema nervioso central y la vascularización a la par que funciona para proteger al cerebro (Hünemeier *et al.*, 2014). Por otra parte los estudios de IM y modularidad en primates y humanos han evidenciado que el rostro y el neurocráneo se comportan como dos módulos craneofaciales (Esteve-Altava *et al.*, 2015) por lo que la propuesta de tres módulos provee un marco robusto para hipótesis de IM y modularidad mediadas por las variantes del gen *GHR* bajo la suposición de que la influencia del gen *GHR* en el crecimiento de los cóndilos mandibulares vía la estimulación de crecimiento cartilaginosa impactará los patrones y magnitud de IM y modularidad de los módulos facial y neurocraneal. Esto se reflejará en los patrones de covariación entre la mandíbula y el rostro, al igual que con el neurocráneo en términos de magnitud; que tan fuerte es la covariación general entre los módulos, y el patrón de IM, es decir las partes específicas del módulo que son más propensas a covariar dentro del módulo y con otras partes de otros módulos. Retomando la hipótesis y los objetivos de este trabajo, se busca poner a prueba el efecto de los genotipos de los polimorfismos del gen *GHR* en las diferencias en el patrón de IM de la cabeza en el espacio de forma

completo, que informa acerca de cambios en la forma debido a los efectos simultáneos de factores comunes y locales debido a que existe la posibilidad de que los genotipos de los diferentes polimorfismos del gen *GHR* puedan vincularse con efectos asociables a diferencias morfológicas o en la magnitud de la integración y modularidad entre los módulos craneofaciales propuestos.

3.1 La muestra

La muestra total de esta investigación está compuesta por 149 individuos totonacos y mestizos de la sierra norte de Puebla y población mestiza de la Ciudad de México (Tabla 3). Todos los individuos proporcionaron consentimiento informado por escrito, y el estudio fue aprobado por el comité de Ética e Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM (número de proyecto 008– 2010).

Para el análisis de integración morfológica y modularidad y su relación con los genotipos del gen *GHR* se corroboró que los individuos fueran no relacionados, no presentaran desórdenes congénitos o traumas craneofaciales, que no hubieran recibido tratamiento de ortodoncia o cirugía maxilofacial a lo largo de su vida y que se contara con los cinco genotipos de los polimorfismos del gen *GHR*.

Tabla 3. Composición de la muestra por localidad, etnicidad y sexo.

ID	Localidad	Etnicidad	Sexo	N
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Mestizo (Tepango)	Hombre	3
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Mestizo (Tepango)	Mujer	12
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Totonaco (Tepango)	Hombre	14
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Totonaco (Tepango)	Mujer	63
UN	Ciudad de México, México	Mestizo	Hombre	21
UN	Ciudad de México, México	Mestizo	Mujer	36

3.2 Obtención de ADN y genotipificación de los alelos

A cada participante se le extrajeron 10 ml de sangre periférica, recolectada en dos tubos de 5ml que contienen anticoagulante EDTA (*Ácido Etilendiaminotetraacético*). A partir de esta muestra de sangre total, se obtuvo el paquete de leucocitos y subsecuentemente se extrajo el ADN por medio del método de extracción por saturación salina. Después de obtener el ADN se realizaron ensayos *TaqMan* (*Applied Biosystems*) para los polimorfismos de un solo nucleótido rs6176, rs6180, rs6182, rs6183 y rs6184 del gen GHR en el Departamento de Genética del Instituto de Biociencias de la Universidad Federal do Rio Grande do Sul. Esto permitió establecer los genotipos de cada polimorfismo para cada individuo. Subsecuentemente se llevó a cabo una prueba de Hardy-Weinberg para cada polimorfismo en la muestra total y después se compararon las frecuencias alélicas mediante la prueba exacta de *Fisher* en una tabla de tres por dos, comparando los genotipos de cada polimorfismo de la muestra contra los genotipos de las poblaciones del continente americano presentes en la base de datos de 1000 genomas (<http://www.internationalgenome.org/>) con el fin de identificar si existen diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de la muestra y las de las poblaciones de 1000 genomas. Por último, se realizó un análisis de desequilibrio de ligamiento y se graficó los bloques de ligamiento entre los cinco polimorfismos mediante el cálculo de los estadísticos R^2 y D' por pares de polimorfismos utilizando el programa *Haploview 4.1*.

3.3 Obtención de las medidas craneofaciales

Los datos morfométricos analizados en esta investigación provienen de la aplicación del “*Protocolo para la digitalización de cabeza en 3D mediante Microscribe G2X*” desarrollado en la Sección de Antropología Física del Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los 31 landmarks (Tabla 4) capturan las estructuras externas faciales y del neurocráneo y se obtuvieron directamente de los individuos utilizando un brazo Microscribe G2 (*Immersion Corporation, San Jose, Ca*) (Figura 27). Este instrumento tiene un área de trabajo de 50 pulgadas (127 cm) y una exactitud de 0.009 pulgadas (0.23 mm; 199 puntos de la esfera ANSI) lo cual confiere una exactitud mayor que cualquier instrumento de medición craneométrica clásico.

Tabla 4. Protocolo de puntos anatómicos utilizado en este estudio. Puntos obtenidos in situ mediante un Microscribe G2X.

NO.	PUNTO ANATÓMICO	DEFINICIÓN
1	<i>Gnación</i>	Punto más bajo de la línea media del borde inferior de la barbilla.
2	<i>Labial inferior</i>	Punto medio del borde bermellón del labio inferior.
3	<i>Labial superior</i>	Punto medio del borde bermellón sobre el labio superior.
4	<i>Subnasal</i>	Punto medio donde se une el borde inferior del tabique nasal, la partición que divide las narinas y la porción cutánea del labio superior
5	<i>Pronasal</i>	Punto más prominente de la nariz.
6	<i>Nasión</i>	Punto medio de la sutura naso-frontal.
7	<i>Glabela</i>	Punto más anterior a la altura del arco superciliar.
8	<i>Vertex</i>	Punto más alto situado en la bóveda del cráneo.
9	<i>Opistocráneo</i>	
10, 15	<i>Eurion</i>	Punto lateral más saliente de la bóveda del cráneo.
11, 16	<i>Frontotemporal</i>	El punto más medial sobre la cresta temporal del hueso frontal
12, 17	<i>Tragion</i>	El punto sobre el borde superior del trago, donde se une con el hélix.

13, 18	<i>Zygion</i>	Punto más lateral de la arcada cigomática.
14, 19	<i>Gonion</i>	Punto situado en la intersección entre la rama ascendente y el cuerpo de la mandíbula
20, 21	<i>Chelion</i>	Esquina externa derecha e izquierda de la boca donde los bordes externos del bermellón superior e inferior se encuentran.
22,23	<i>Alar</i>	Punto más lateral sobre el ala nasal derecha e izquierda.
24,25	<i>Orbital</i>	Punto más bajo en el margen inferior de la órbita.
26,27	<i>Endocantion</i>	Esquina interior de la hendidura del ojo derecho e izquierdo.
28,29	<i>Exocantion</i>	Esquina exterior de la hendidura del ojo derecho donde los párpados se encuentran.
30,31	<i>Supraciliar</i>	Punto lateral situado en la parte más prominente del hueso frontal.

Para aumentar la confiabilidad y reducir el error de medida debido a movimientos de la cabeza durante el protocolo, se utilizó un dispositivo de descanso e inmovilización de la cabeza. Con esto se generaron las coordenadas x, y, z de cada landmark a través de una interfase digital con una computadora. Utilizando la base de datos de 149 individuos con sus respectivas configuraciones de 31 landmarks se aplicó un filtro correspondiente a los individuos que presentaran los genotipos correspondientes a los cinco polimorfismos del gen GHR. Tras filtrar los individuos que no presentaran alguno de los genotipos se estableció una submuestra de 64 individuos (13 hombres y 51 mujeres) con la cual, subsecuentemente, se realizaron dos rutas de análisis.

3.4 Análisis de morfometría geométrica

La morfometría geométrica (MG) es una aproximación multivariada que permite el estudio de la forma, definida como las propiedades geométricas restantes tras remover los efectos de la escala, la rotación y la translación de un objeto (Kendall, 1977; Lele and Bookstein, 1999). Esta disciplina surgió en la década de 1980 como

una propuesta al estudio de las formas de las estructuras anatómicas basada en la captura de la geometría de la morfología de interés a partir del uso de coordenadas de landmarks que permiten la retención de la información geométrica a lo largo de una ruta de análisis multivariado (Corti, 1993).

El cambio fundamental entre morfometría clásica y morfometría geométrica es el uso de tipos fundamentalmente distintos de datos para cuantificar la forma, la M.G. utiliza coordenadas de landmarks en puntos anatómicos, bordes de curvas y en superficies que, en conjunto con la teoría estadística para el análisis de la forma permitieron llevar a cabo el estudio de la variación de la forma y su covariación con otras variables (Bookstein, 1996). La combinación de la geometría con la estadística multivariada, que está en el núcleo de la morfometría geométrica asegura que la forma de la estructura está caracterizada completamente y sin redundancia. El análisis automáticamente toma en cuenta todas las relaciones espaciales entre landmarks morfológicos u otras características geométricas incluidas en el análisis, sin la necesidad de que el investigador defina, *a priori*, un conjunto de rasgos a incluir en el análisis (Klingenberg, 2013).

En la actualidad, la mayoría de los estudios de MG se basan en el Paradigma de Procrustes (Figura 26); una aproximación al análisis de la forma que emergió de la unificación de una teoría estadística rigurosa de la forma (Kendall, 1984, 1985; Bookstein, 1986) con los procedimientos analíticos de superposición de configuraciones para obtener variables de forma (Rohlf and Slice, 1990; Rohlf, 1999; Zelditch et al., 2012) y que actualmente se considera la aproximación metodológica central para el estudio de la forma. La ruta de análisis basada en el Paradigma de Procrustes consiste en llevar a cabo; digitalización de las coordenadas de

landmarks, Análisis Generalizado de Procrustes (GPA por sus siglas en inglés) para remover la variación ajena a la forma ("*non-shape variation*"), análisis estadístico multivariado y por una proyección gráfica de los resultados.

El paradigma comienza con la digitalización de un conjunto de coordenadas de landmarks de las ubicaciones anatómicas para cada espécimen. Subsecuentemente, se realiza el Análisis Generalizado de Procrustes (GPA) en el cual se estandarizan mediante superimposición las configuraciones de los landmarks de todos los especímenes a un sistema común de coordenadas para generar un conjunto de variables de la forma. Mediante un procedimiento de mínimos cuadrados, el GPA traslada todos los especímenes al origen, los escala a la unidad de centroide ("*centroid size*") y los rota para minimizar el total de la suma de desviaciones cuadradas de las coordenadas de landmarks para todos los especímenes llevándolos al promedio de las configuraciones (Rohlf and Slice 1990). El resultado son las coordenadas alineadas de la forma que describen la ubicación de cada espécimen en el espacio tangente de forma de Kendall (Slice, 2001) y con las cuales se llevan a cabo análisis multivariados de la forma. Existen dos consecuencias importantes de llevar a cabo un GPA, la primera es hay pérdida de grados de libertad matemática y estadística (cuatro grados cuando son análisis en dos dimensiones y siete cuando son en tres dimensiones) que conlleva que en la matriz de covarianza las columnas y las filas no son independientes y por lo tanto la matriz inversa no pueda ser calculada y la otra consecuencia es que la varianza de cualquier landmark es ahora un producto de la variación biológica y además de la solución de mínimos cuadrados (Goswami and Polly, 2010a).

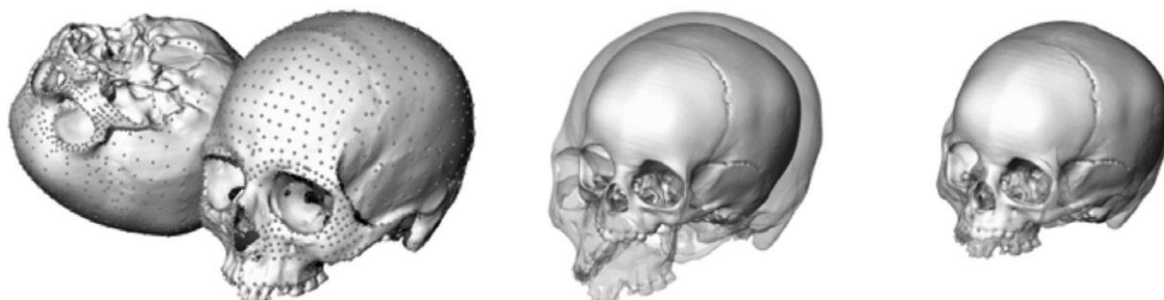


Figura 26. La superposición de Procrustes. Izquierda; las coordenadas en bruto todavía contienen información sobre la posición, orientación y tamaño de los cráneos. En medio; los especímenes se centran para estandarizar la posición. Derecha; los cráneos en la orientación de Procrustes: la posición, la orientación y el tamaño están estandarizados; lo que queda son las diferencias de forma entre estos dos especímenes.

El tercer y cuarto pasos consisten en poner a prueba hipótesis biológicas usando métodos estadísticos multivariados que permitan analizar diferencias de forma entre grupos o identificar patrones de covariación entre forma y otras variables continuas y subsecuentemente utilizar los métodos de ordenación (“*ordination methods*”) para generar visualizaciones gráficas del patrón de dispersión de la variación en la forma o para facilitar las descripciones de los cambios en la forma entre especímenes de diferentes especies.

En el caso de la investigación de la IM y la modularidad el análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés) que tradicionalmente se usa como un método para reducir la dimensionalidad de datos multivariados es usado como una manera para reorganizar los datos multivariados en ejes. Cada eje o componente principal (PC por sus siglas en inglés) describe las inter correlaciones entre grupos específicos de variables de tal forma que los componentes principales son un conjunto de ejes, en el cual, el primero es el eje mayor respecto de los ejes subsecuentes, lo que significa que la variación a lo largo de los subsecuentes

componentes es la variación residual no correlacionada alrededor del previo eje (Goswami and Polly, 2010a) y por lo tanto cada PC describe la variación correlacionada entre varias de las variables originales que no están correlacionadas con variación en otro PC (Mitteroecker *et al.*, 2004). Esta descripción está cuantificada por los eigenvalores, que son la cantidad de la varianza original explicada por cada PC y, la suma total de eigenvalores colectivamente explica la varianza original de los datos. Por otra parte, los eigenvectores describen la transformación desde el nuevo eje de PC a los ejes originales de las variables y cada eigenvector tiene un peso o “*loading*” para cada variable que indican grados de correlación entre la variable y el PC. Por lo tanto, entre mayor covariación exista entre las variables originales, mayor será la varianza explicada por los primeros componentes principales.

Si las correlaciones entre las variables originales son grandes de tal forma que el porcentaje de variación en el primer PC resulte muy alta entonces esta variación está altamente integrada, de tal forma que desde una perspectiva de IM y modularidad, los eigenvectores de cada PC son una simple medida de modularidad mientras que la dispersión de los eigenvalores es una medida fácilmente comparable a la Integración (Goswami and Polly, 2010a).

Como es apreciable, el Paradigma de Procrustes se ha posicionado en MG como un conjunto de metodologías que combinan análisis estadísticos rigurosos y visualizaciones de los cambios de la forma con el fin de llevar a cabo un profundo análisis de la forma y sus cambios intra y entre especies. No obstante, a más de tres décadas de su génesis se han incorporado nuevas tecnologías y

aproximaciones que han permitido una transición al uso de datos en tres dimensiones por parte de la antropología física y forense (Slice, 2007).

3.5 Construcción de hipótesis de módulos

La ruta de análisis de Procrustes de esta investigación se realizó utilizando el software *MorphoJ* Para Windows versión 1.0 (Klingenberg, 2011) y únicamente con la submuestra de 46 individuos que presentó los 31 landmarks y los cinco genotipos del gen GHR analizados en esta investigación.



Figura 27. Ubicación anterior de los landmarks usados en este estudio. Tomado de "Protocolo para la digitalización de cabeza en 3D mediante Microscribe G2X", UNAM (Gómez-Valdés y colaboradores, 2010)

El primer paso consistió conformar los módulos previamente descritos a partir de la configuración de 28 landmarks que abarcan el conjunto de fenotipos craneofaciales global y se denominó como “Cabeza”. Debido a la naturaleza de trabajo jerarquizado que sigue *MorphoJ* se utilizó el conjunto de cabeza para realizar tres subdivisiones de landmarks que representaran las hipótesis de módulo neurocraneal, módulo facial y módulo mandibular (Tabla 5). y para cada uno de ellos se realizó un *wireframe* que ayude a representar los cambios en la forma (Figura 28).

Tabla 5. Landmarks utilizados para caracterizar los módulos Facial, Neurocraneal y Mandibular en el análisis jerarquizado llevado a cabo en el software *MorphoJ*.

Módulo Facial		Módulo Neurocraneal		Módulo Mandibular	
Punto original	Landmark	Punto original	Landmark	Punto original	Landmark
1	<i>Gnación</i>	6	<i>Glabela</i>	1	<i>Gnación</i>
2	<i>Labial inferior</i>	7	<i>Vertex</i>	2	<i>Labial inferior</i>
3	<i>Labial superior</i>	8	<i>Opistocráneo</i>	11	<i>Tragion izq.</i>
4	<i>Pronasal</i>	9	<i>Eurion izq.</i>	12	<i>Zygion izq.</i>
5	<i>Nasión</i>	10	<i>Frontotemporal izq.</i>	13	<i>Gonion izq.</i>
13	<i>Gonion izq.</i>	11	<i>Tragion izq.</i>	16	<i>Tragion der.</i>
18	<i>Gonion der.</i>	12	<i>Zygion izq.</i>	17	<i>Zygion der.</i>
19	<i>Cheilion izq.</i>	14	<i>Eurion der.</i>	18	<i>Gonion der.</i>
20	<i>Cheilion der.</i>	15	<i>Frontotemporal der.</i>	19	<i>Cheilion izq.</i>
23	<i>Endocantion izq.</i>	16	<i>Tragion der.</i>	20	<i>Cheilion der.</i>
24	<i>Endocantion der.</i>	17	<i>Zygion der.</i>		
25	<i>Exocantion izq.</i>	27	<i>Orbital izq.</i>		
26	<i>Exocantion der.</i>	28	<i>Orbital der.</i>		

Para la configuración global de Cabeza al igual que para las tres hipótesis de módulos se realizó un Análisis Generalizado de Procrustes (GPA) en la cual las configuraciones de *landmarks* son trasladadas, escaladas y rotadas de acuerdo con el criterio de mínimos cuadrados hasta que las distancias entre *landmarks* homólogos se minimice con lo cual se elimina el sesgo introducido por tamaño (*size*) y permite analizar la forma (*shape*). Posteriormente al obtener la configuración de forma consenso, la cual es la media de las formas individuales, se generó una matriz de varianza-covarianza para la configuración completa de landmarks, al igual que las tres hipótesis de módulos utilizando el componente simétrico.

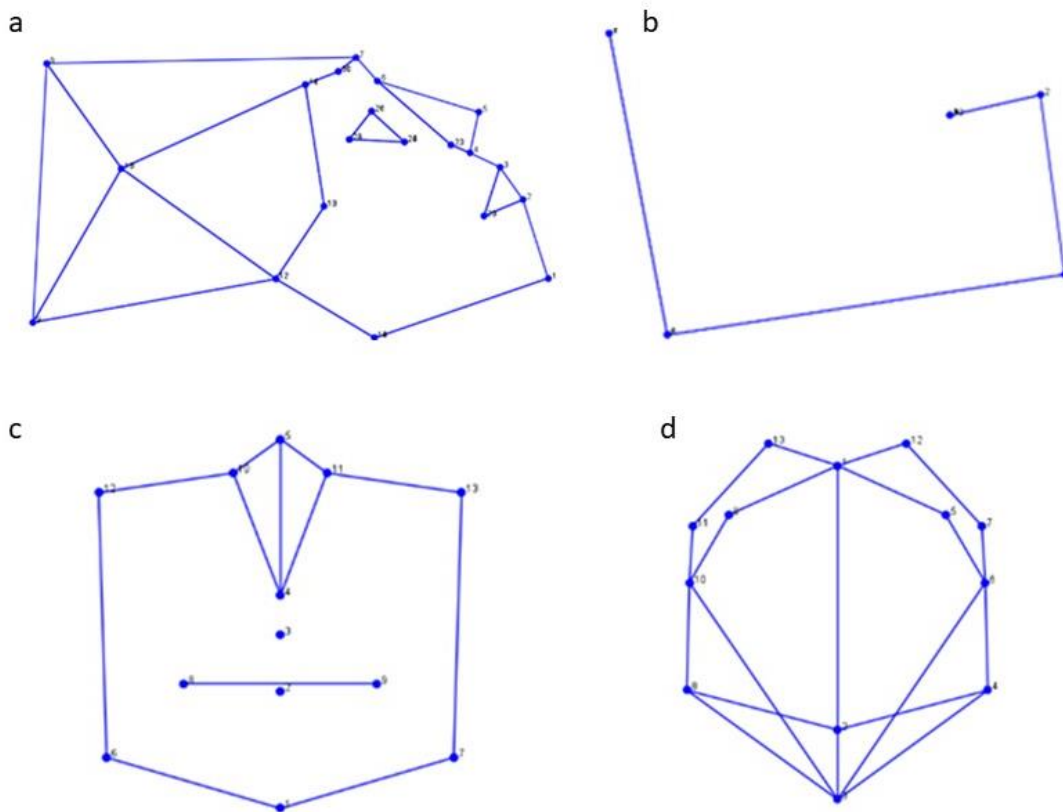


Figura 28. *Wireframes* de la configuración general y las cuatro hipótesis de módulos. a) Configuración general (Cabeza) b) Hipótesis mandibular c) Hipótesis facial d) Hipótesis neurocraneal,

3.6 Hipótesis de modularidad y patrones de Integración morfológica

Para evaluar la influencia de los genotipos de los cinco polimorfismos del gen GHR en los patrones y la magnitud de la integración morfológica y modularidad entre las hipótesis de módulos se llevó a cabo una serie de análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS, *Partial Least squares por sus siglas en ingles*) en *MorphoJ* (Klingenberg 2009) comparando los módulos Facial versus Neurocraneal, Facial versus Mandibular y Neurocraneal versus Mandibular. Basando en los resultados de las elipses de confianza para los cuatro genotipos del gen GHR en los gráficos de dispersión de los dos ejes de PLS1-1 y PLS1-2 se exploraron los genotipos que mostraran un efecto sobre la integración morfológica. Para llevar a cabo este análisis, se crearon los subgrupos del conjunto de datos basados en la presencia de los respectivos genotipos de interés y se repitieron los análisis de PLS donde previamente se había identificado un posible efecto.

El análisis de mínimos cuadrados parciales extrae los eigenvectores y los eigenvalores de dos bloques de datos que covarían y los combina para generar una matriz de correlaciones con el fin de construir los bloques de correlaciones entre los dos bloques, es decir, el Bloque 1-1 es el bloque de correlaciones entre los primeros conjuntos de variables y el Bloque 2-1 es el bloque de correlaciones entre el segundo conjunto de variables, y el Bloque 1-2 y Bloque 2-2 son las dos correlaciones entre bloques entre los dos conjuntos de variables. Por lo tanto, el análisis de mínimos cuadrados parciales identifica los componentes principales de covariación entre los conjuntos de datos mediante la descomposición del Bloque 1-1 y 2-1 en dos conjuntos de eigenvalores y eigenvectores para cada uno de los

conjuntos de datos usando una descomposición de valor singular para producir las matrices de eigenvectores de los dos conjuntos de datos (Goswami and Polly, 2010a). Dicho de otra manera, el PLS supone que dadas las hipótesis de modularidad (representadas por el conjunto de variables en cada módulo) que se introducen a la prueba, estos corresponderán a unidades con bajo grado de covariación con otros módulos. Esto quiere decir que, si la partición corresponde a una verdadera frontera entre módulos, la covariación será débil entre ellos ya que habrá una fuerte independencia entre módulos, mientras que, si la modularidad es débil, se espera que la covariación entre subconjuntos sea grande debido a que los subconjuntos están vinculados por una fuerte integración (Sanchez-Quinto 2015).

En conjunto al análisis de PLS, *Klingenberg* (2009) introdujo un nuevo método robusto basado en el coeficiente RV de *Escoufier* (Escoufier, 1973) para poner a prueba si hipótesis de módulos hipotetizados se ajustan mejor al patrón observado de matrices de covarianza en comparación a una distribución de particiones aleatoriamente generadas de equivalente tamaño y número. El coeficiente RV mide la asociación entre dos conjuntos de variables al dividir la covarianza entre dos conjuntos de variables por la varianza de cada conjunto en matrices simétricas y tiene un rango de 0 a 1 donde cero representa un caso donde no hay covarianza entre los conjuntos de datos (modularidad) y uno representa un caso donde hay IM.

Para poner a prueba la significancia del coeficiente RV, *Klingenberg* diseñó una prueba de permutación que compara los coeficientes RV observados para los módulos hipotetizados a aquellos aleatoriamente generados, pero en particiones de igual tamaño usando los mismos landmarks. En el software *MorphoJ* el cálculo del PLS incluye el coeficiente RV (Escoufier, 1873) como una medida de la covariación

entre dos conjuntos de puntos de referencia y también calcula el coeficiente RV para la partición de los landmarks especificados con la hipótesis por el usuario o bien para todas las posibles particiones alternativas y para un gran número de particiones alternativas aleatorias (Klingenberg 2011).

Capítulo IV. Resultados

4.1 Estadística descriptiva

La muestra final analizada corresponde a 64 individuos, de los cuales 40 provienen del municipio de Tepango de Rodríguez y 24 de la Ciudad de México. Del total de la muestra 13 son hombres y 51 son mujeres (Tabla 6).

Tabla 6. Muestra final tras los filtros de genotipos y coordenadas de landmarks.

ID	Localidad	Etnicidad	Sexo	N
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Mestizo	Mujer	8
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Totonaco	Hombre	3
TR	Tepango de Rodríguez, Puebla	Totonaco	Mujer	29
UN	Ciudad de México, México	Mestizo	Hombre	10
UN	Ciudad de México, México	Mestizo	Mujer	14

Las frecuencias alélicas de los polimorfismos en el gen *GHR* analizados en esta investigación se pueden observar en la tabla 7 junto con las frecuencias reportadas en estudios previos de las poblaciones japonesa y coreana (únicos que reportaron las frecuencias alélicas y de genotipos en su estudio) en conjunto con las reportadas en 1000 genomas para el conjunto de poblaciones americanas (AMR). Las frecuencias se compararon mediante una prueba exacta de Fisher dos por dos (Tabla 8) encontramos diferencias significativas entre la muestra y las respectivas poblaciones de 1000 genomas (los valores marcados en azul representan diferencias significativas) para los polimorfismos rs6180 y rs6183 y rs6184. Por otra parte, las diferencias entre la población colombiana de Medellín y la muestra son significativas para todos los polimorfismos.

Tabla 7. Comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos del gen GHR en la muestra y en las poblaciones americanas en 1000 genomas.

Locus	Alelo	Número de alelos	Muestra (%)	Mexicanos de Los Ángeles (%)	Colombianos de Medellín (%)	Peruanos de Lima (%)	Puertorriqueños (%)
rs6176	C	128	1	1	0.98	0.988	0.976
(S473S)	T	0	0	0	0.02	0.012	0.024
rs6180	A	98	0.7656	0.562	0.628	0.647	0.558
(I526L)	C	30	0.2344	0.438	0.372	0.353	0.442
rs6182	G	119	0.9219	0.977	0.979	0.982	0.966
(C422F)	T	9	0.0781	0.023	0.021	0.018	0.034
rs6183	C	108	0.8359	1	1	1	1
(P477T)	A	20	0.1641	0	0	0	0
rs6184	C	116	0.8984	0.977	0.979	0.982	0.966
(P561T)	A	12	0.1016	0.023	0.021	0.018	0.034

Tabla 8. Prueba exacta de Fisher entre la muestra, estudios previos y las poblaciones de América en 1000 genomas.

Muestra	Estudios previos		1000 genomas			
	Japoneses	Coreanos	Mexicanos de Los Ángeles	Colombianos de Medellín	Peruanos de Lima	Puertorriqueños
rs6176	0.0391	0.557	1	0.0443	0.5083	0.1609
rs6180	0.0175	0.0068	0.0009	0.0099	0.0305	0.0001
rs6182	0.5023	0.8441	0.1365	0.0423	0.0339	0.1853
rs6183	< 0.00001	< 0.00001	< 0.00001	< 0.00001	< 0.00001	< 0.00001
rs6184	0.1352	0.7053	0.0301	0.007	0.0055	0.0276

En la tabla 9 se pueden observar los genotipos identificados en la muestra para los cinco polimorfismos del gen *GHR*. A partir de los conteos directos se llevó a cabo cinco pruebas independientes para comprobar que las frecuencias alélicas de los polimorfismos en la muestra cumplen el equilibrio de *Hardy-Weinberg* (HWE en inglés). La prueba de HWE determina las frecuencias genotípicas esperadas y las compara con las frecuencias genotípicas observadas, asumiendo un tamaño

poblacional suficientemente grande y apareamientos al azar, la prueba evalúa si las frecuencias alélicas y genotípicas se mantienen constantes de una generación a la siguiente, o si existe influencia de alguna de las cuatro fuerzas microevolutivas (selección natural, flujo genético, deriva genética y mutación). Para esto se utilizó el programa *HardyWeinbergTesting (HW_TEST)* (Santos et al., 2020) y se realizó una prueba de χ^2 bajo un 95% de confianza. Debido a que el polimorfismo rs6176 consiste únicamente en individuos homocigotos y por lo tanto no hay variación, este se retiró de la ruta de análisis subsecuente. Por otra parte, como se puede observar en la Tabla 9 los polimorfismos rs6180, rs6182, rs6183 y rs6184 tienen valores de significancia de la prueba de χ^2 por arriba de 0.05 por lo cual se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 9. Genotipos correspondientes a los cinco polimorfismos del gen GHR y los resultados de la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg para los polimorfismos.

Locus	Genotipo	Frecuencia (%)	n	Significancia de la χ^2 (Prueba de HWE)
rs6176	CC	1	64	n/a
rs6180	AA	0.562	36	0.2911
	AC	0.406	26	
	CC	0.031	2	
rs6182	GG	0.875	56	0.1911
	GT	0.109	7	
	TT	0.016	1	
rs6183	CC	0.687	44	0.1385
	AC	0.313	20	
rs6184	CC	0.828	53	0.5198
	AC	0.156	10	
	AA	0.016	1	

Debido a que los cinco polimorfismos se encuentran dentro del exón diez del gen GHR se llevó a cabo un análisis de desequilibrio de ligamiento utilizando el software *Haploview 4.1* (Barrett et al., 2005). Dicho programa calcula los estadísticos D' y R^2 (tabla 10) y también construye una gráfica con el fin de visualizar los bloques de desequilibrio de ligamiento. Como se puede observar en la Figura 29, el análisis identificó dos bloques, el primero correspondiente a los polimorfismos rs6182 y rs6183 y el segundo bloque correspondiente a los polimorfismos rs6180 y rs6184.

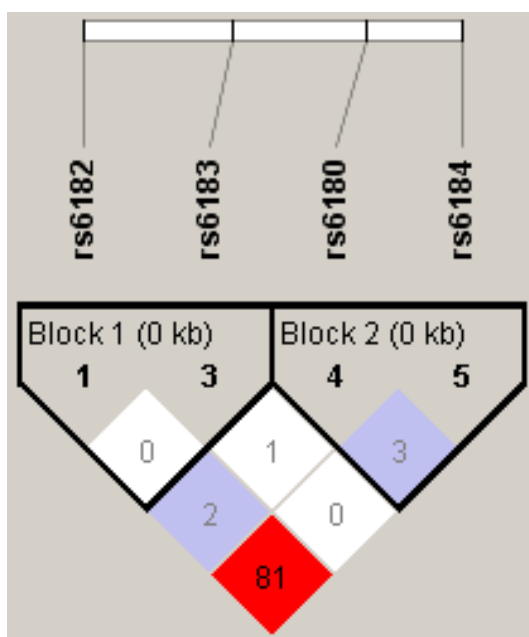


Figura 29. Bloques de ligamiento entre los cuatro polimorfismos del gen GHR.

Tabla 10. Cálculo de los estadísticos de desequilibrio de ligamiento D' y R^2 para los polimorfismos rs6180, rs6182, rs6183 y rs6184.

Polimorfismos	D'	R^2
rs6182, rs6184	1	0.819
rs6180, rs6184	1	0.032
rs6182, rs6180	1	0.026
rs6183, rs6180	0.433	0.011
rs6182, rs6183	0.12	0.06
rs6183, rs6184	0.009	0

Por otra parte, los estadísticos D' y R^2 fueron calculados por el programa *Haploview* 4.1 como valores del desequilibrio de ligamiento y como tal, miden la asociación no aleatoria entre dos alelos, es decir, la frecuencia en que estos alelos se heredan en conjunto. En este sentido se puede observar en la Tabla 10 los valores de desequilibrio de ligamiento más altos corresponden a los polimorfismos rs6182-rs6184 que presentan una D' de 1 y una R^2 de 0.0819, mientras que los polimorfismos rs6180-rs6184 presentan valores de D' de 1 y R^2 de 0.32, y rs6182-rs6180 que presentaron una D' de 1 y una R^2 de 0.26. Por otra parte, para las combinaciones rs6183-rs6180, rs6182-rs6183 y rs6183-rs6184 presentan D' y la R^2 menores, lo que indica un menor desequilibrio de ligamiento y por lo tanto mayor probabilidad de que se hereden de manera independiente.

4.2 Patrones de variación morfológica

A partir de los datos generados por el GPA se generó una matriz de covarianza para el componente simétrico de la configuración del cráneo y subsecuentemente se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA). La primer componente principal (PC1) explica el 17.657% de la varianza mientras que la segunda componente principal (PC2) explica el 10.67% (Tabla 11).

Tabla 11. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del análisis de componentes principales del Cabeza.

Componente Principal	Eigenvalores	Porcentaje de Varianza explicada	Porcentaje de Varianza acumulada
1	0.00066401	17.657	17.657
2	0.00040127	10.67	28.328
3	0.00033572	8.927	37.255
4	0.00031587	8.4	45.655
5	0.00025298	6.727	52.382
6	0.00023292	6.194	58.576
7	0.00019894	5.29	63.866
8	0.00017085	4.543	68.409
9	0.00015402	4.096	72.505
10	0.00011691	3.109	75.614
11	0.00010085	2.682	78.295
12	0.00009318	2.478	80.773
13	0.0000832	2.212	82.986
14	0.00007147	1.901	84.886
15	0.00006813	1.812	86.698
16	0.00006305	1.677	88.375
17	0.00005321	1.415	89.79
18	0.00004714	1.254	91.043
19	0.00004225	1.124	92.167
20	0.00003764	1.001	93.168
21	0.00003318	0.882	94.05
22	0.0000314	0.835	94.885
23	0.00002577	0.685	95.571
24	0.0000234	0.622	96.193
25	0.00002039	0.542	96.735
26	0.00001869	0.497	97.232
27	0.00001569	0.417	97.649
28	0.00001483	0.394	98.044
29	0.00001158	0.308	98.351
30	0.00000988	0.263	98.614
31	0.0000093	0.247	98.861
32	0.00000806	0.214	99.076
33	0.0000075	0.199	99.275
34	0.00000672	0.179	99.454
35	0.00000491	0.131	99.584
36	0.00000407	0.108	99.692
37	0.00000346	0.092	99.784
38	0.00000293	0.078	99.862

39	0.00000206	0.055	99.917
40	0.00000132	0.035	99.952
41	0.00000111	0.03	99.982
42	0.00000067	0.018	100

En el gráfico de dispersión de las componentes principales (Figura 30) se puede observar que las PC1 y PC2, que son los ejes que explican la mayor variación en la configuración global del cráneo de la muestra, se distribuyen en un gradiente amplio de variación sin aparentes agrupaciones naturales.

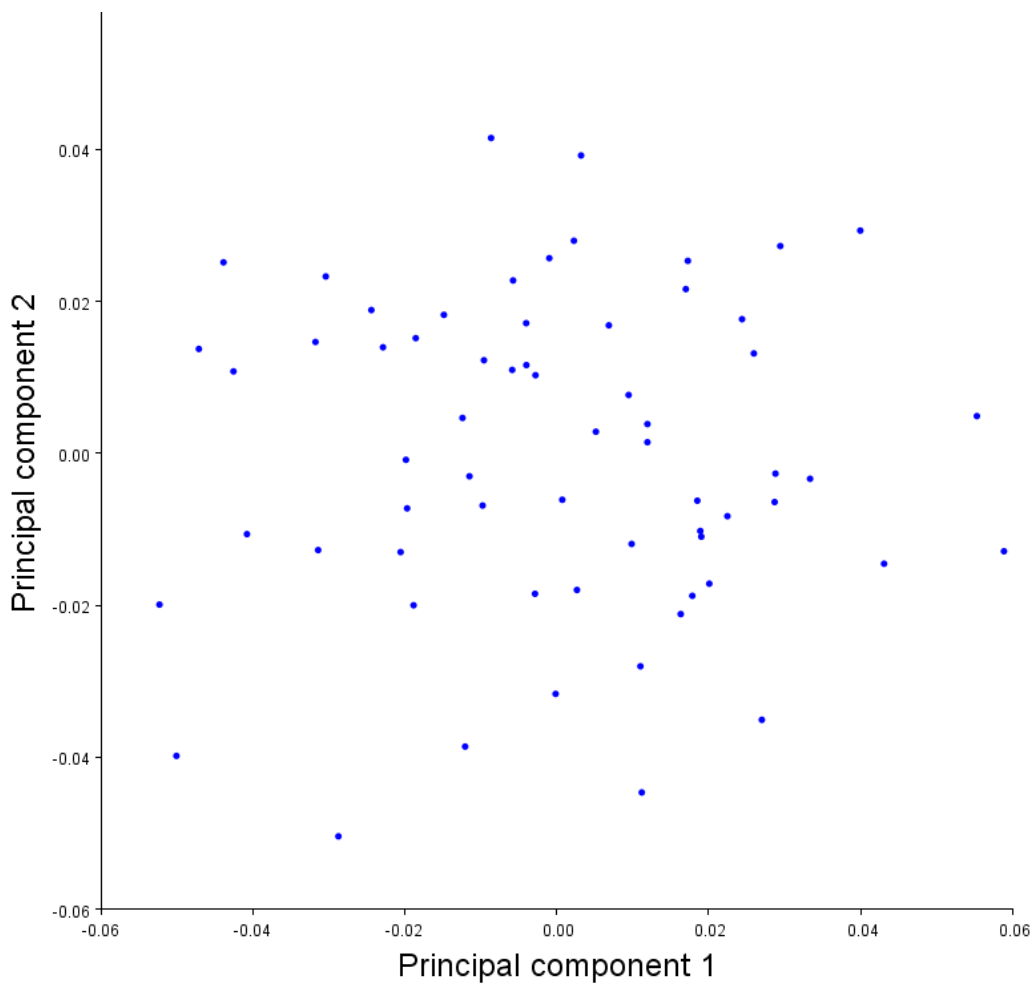


Figura 30. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales de Cabeza (PC1 Y PC2).

La Figura 31 muestra los polígonos asociados a los cambios morfológicos a lo largo de las dos primeras componentes principales. En la primera componente (PC1) se puede observar que el cambio en la forma está principalmente guiado por una mayor flexión de la base, mayor protrusión del mentón mandibular y menor altura neurocraneal hacia los valores positivos, mientras que hacia los negativos se asocia un cambio morfológico craneal relacionado con una mayor flexión de la base, una mayor retrusión y mayor altura neurocraneal. Por su parte, en la segunda componente principal (PC2) se aprecia hacia los valores positivos, de igual manera, un cambio regionalizado debido a la retrusión del mentón mandibular, pero también una mayor proyección del tercio medio facial y aumento en altura. Naturalmente, hacia los valores negativos se aprecian cambios morfológicos craneales relacionados con la protrusión mentoniana, y disminución de la proyección del tercio medio facial y la altura de la cara.

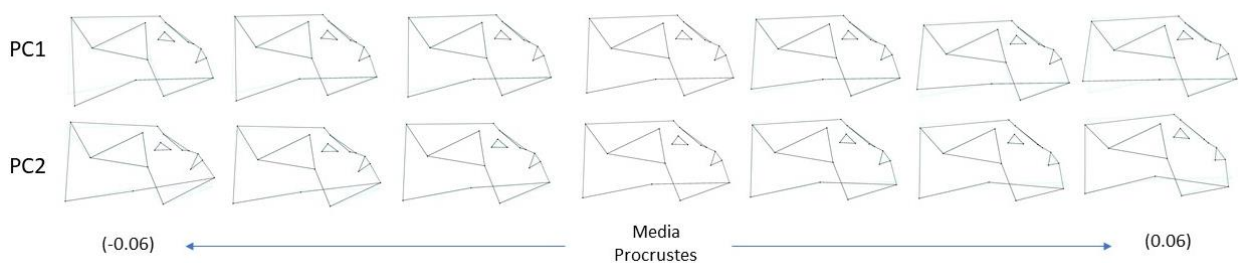


Figura 31. Variación del cambio en la forma craneal generalizada asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Respecto al cambio morfológico craneal (Figura 32) asociado a cada uno de los polimorfismos del gen GHR analizados; primeramente, es importante mencionar

que solo fueron analizados cuatro de ellos, debido a que el polimorfismo rs6174 no presento diversidad de genotipos. De esta manera, se puede observar que los genotipos de los polimorfismos rs6180, rs6183 y rs6184 presentan una dispersión aleatorizada a lo largo de los ejes de variación de las componentes principales. No obstante, los individuos portadores del genotipo C/T del polimorfismo rs6182 muestran una tendencia hacia los valores positivos de la PC2 que se asocian a menor protrusión del mentón mandibular, mayor proyección y altura media facial.

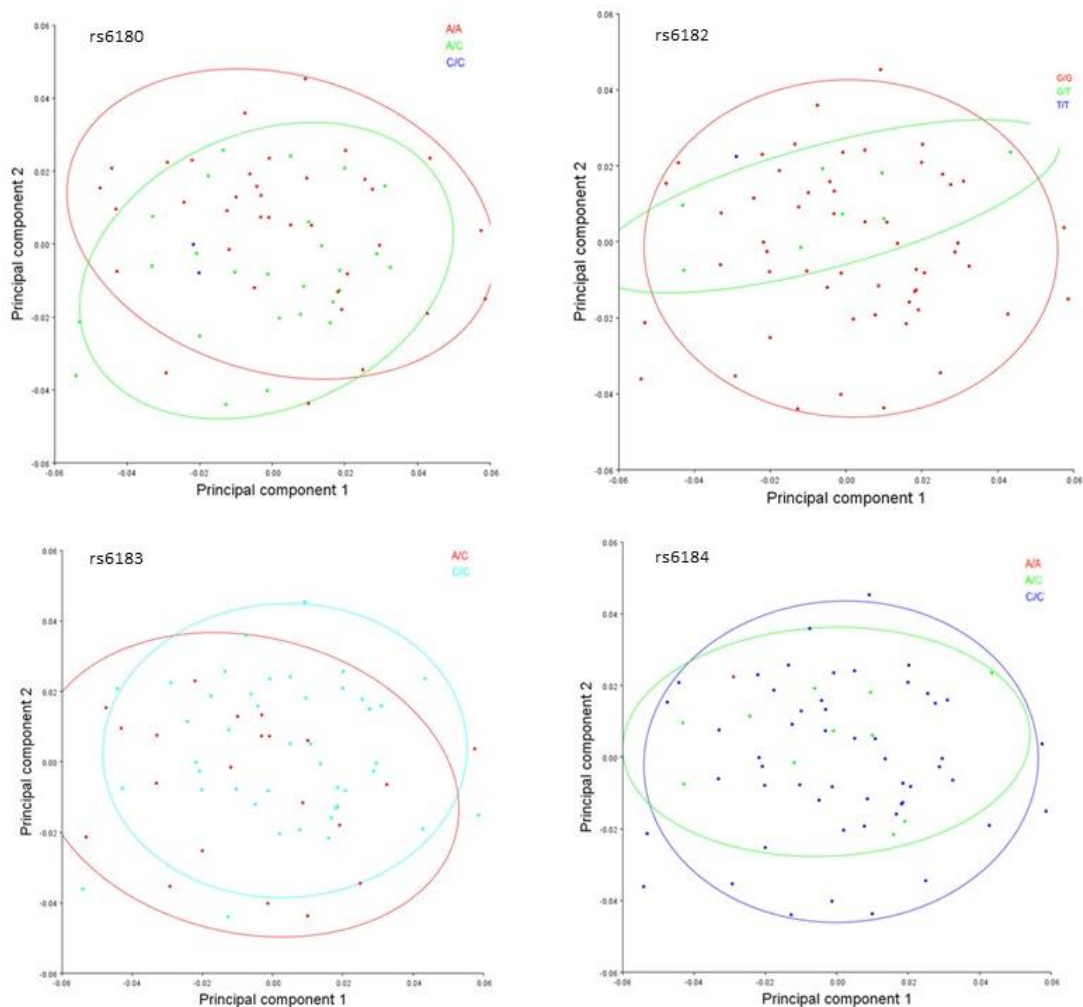


Figura 32. Análisis de componentes principales de Cráneo total (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

4.2.1 Variación en la hipótesis de módulo neurocraneal

El primer módulo derivado de la configuración Cráneo bajo el análisis jerarquizado es la hipótesis de módulo neurocraneal que corresponde a una configuración construida a partir de 13 de los 28 landmarks (Tabla 5). Con base en los datos generados por el GPA se generó una matriz de covarianza para el componente simétrico del módulo neurocraneal y subsecuentemente se llevó a cabo un análisis de componentes principales. El primer componente PC1 explica el 28.162% de la varianza mientras que el segundo PC2 el 14.205% (Tabla 12).

Tabla 12. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del PCA sobre el componente simétrico del módulo neurocraneal.

Componente Principal	Eigenvalores	Porcentaje de Varianza explicada	Porcentaje de Varianza acumulada
1	0.00108418	28.162	28.162
2	0.00054688	14.205	42.367
3	0.00043992	11.427	53.794
4	0.00035173	9.136	62.93
5	0.00023267	6.044	68.974
6	0.000218	5.662	74.636
7	0.00018853	4.897	79.533
8	0.00018029	4.683	84.216
9	0.00013169	3.421	87.637
10	0.00011718	3.044	90.681
11	0.00008719	2.265	92.945
12	0.00008014	2.082	95.027
13	0.00005424	1.409	96.436
14	0.00004679	1.215	97.651
15	0.00003645	0.947	98.598
16	0.00003112	0.808	99.406
17	0.00002285	0.594	100

En la Figura 33 se observa el gráfico de dispersión de la variación en la configuración global neurocraneal de las dos primeras principales que explican la mayor variación. Los individuos se dispersan en el gradiente de variación de las componentes principales sin aparentes agrupaciones naturales, aunque cabe resaltar que algunos individuos se distribuyen en el eje de la PC1 con un mayor rango de valores negativos y positivos respecto del eje de la PC2.

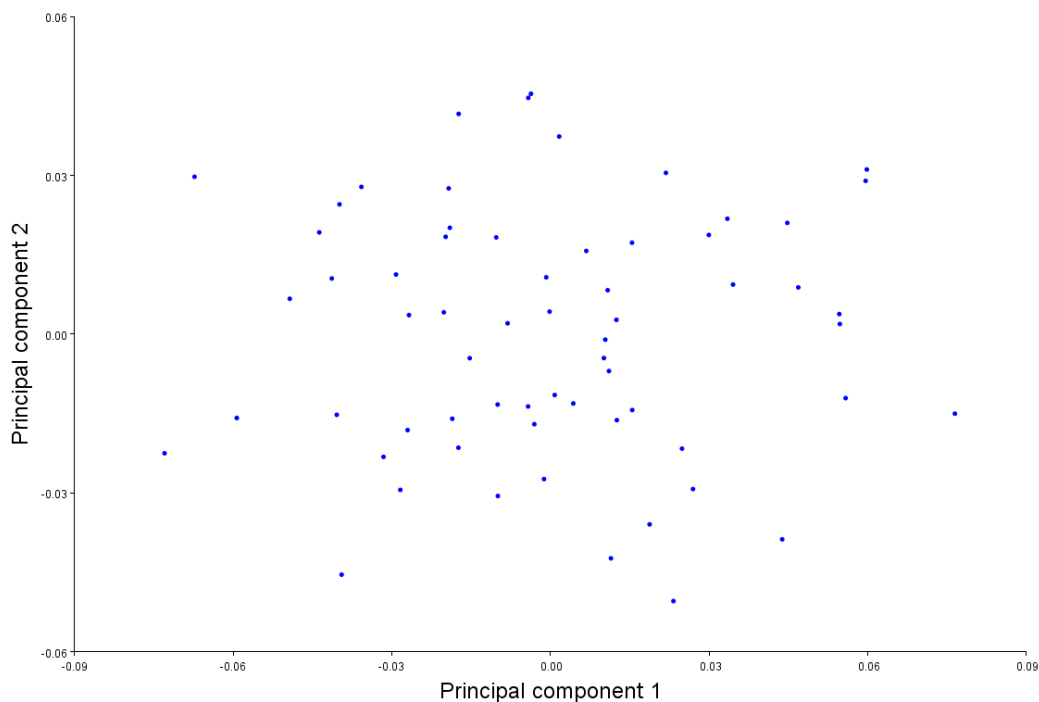


Figura 33. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales del módulo neurocraneal (PC1 Y PC2).

Respecto al cambio morfológico, la Figura 34 muestra los polígonos asociados a los cambios a lo largo de las primeras dos componentes principales. En la primera componente (PC1) se puede observar que el cambio en la forma está principalmente guiado por una mayor altura neurocraneal y una menor proyección de la región occipital y una menor proyección en la región de los arcos zigomáticos,

así como una menor anchura de la bóveda hacia los valores positivos, mientras que hacia los valores negativos se asocian cambios en la región neurocraneal relacionado con una menor altura craneal, una mayor proyección de la región occipital y de los arcos zigomáticos.

En cuanto a los cambios asociados a la segunda componente principal (PC2) se aprecia una menor altura neurocraneal y una mayor proyección de la región occipital al igual que una mayor anchura neurocraneal sobre el eje frontal hacia los valores positivos. De acuerdo con esto, hacia los valores negativos se aprecia una menor altura neurocraneal, mayor proyección de la región occipital y cráneos más con menor anchura neurocraneal sobre el eje frontal y con una mayor proyección hacia la parte posterior del neurocráneo.

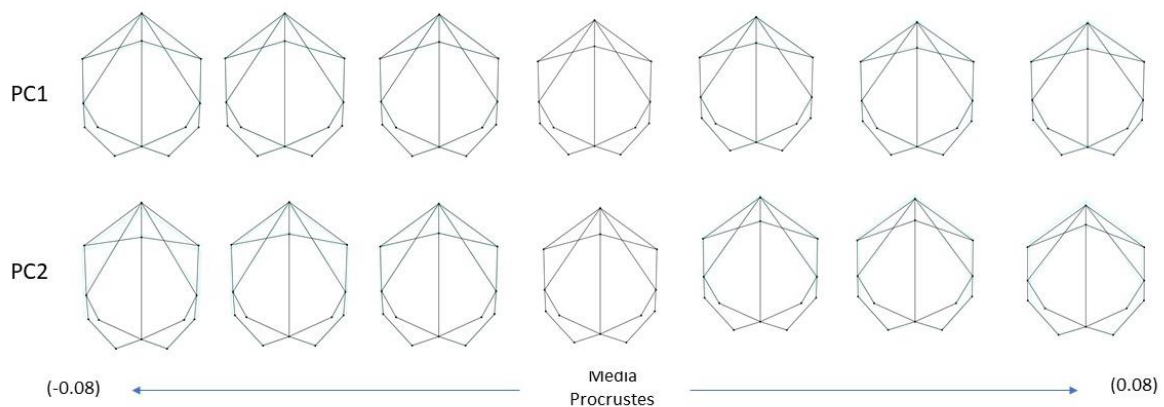


Figura 34. Variación del cambio en la forma de la región neurocraneal asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Respecto al cambio morfológico neurocraneal asociado a cada uno de los polimorfismos del gen GHR analizados se puede observar que los individuos portadores de los genotipos de los polimorfismos rs6180, rs6182, rs6183 y rs6184

presentan una dispersión aleatorizada a lo largo de los ejes de variación de las componentes principales sin una aparente agrupación natural (Figura 35).

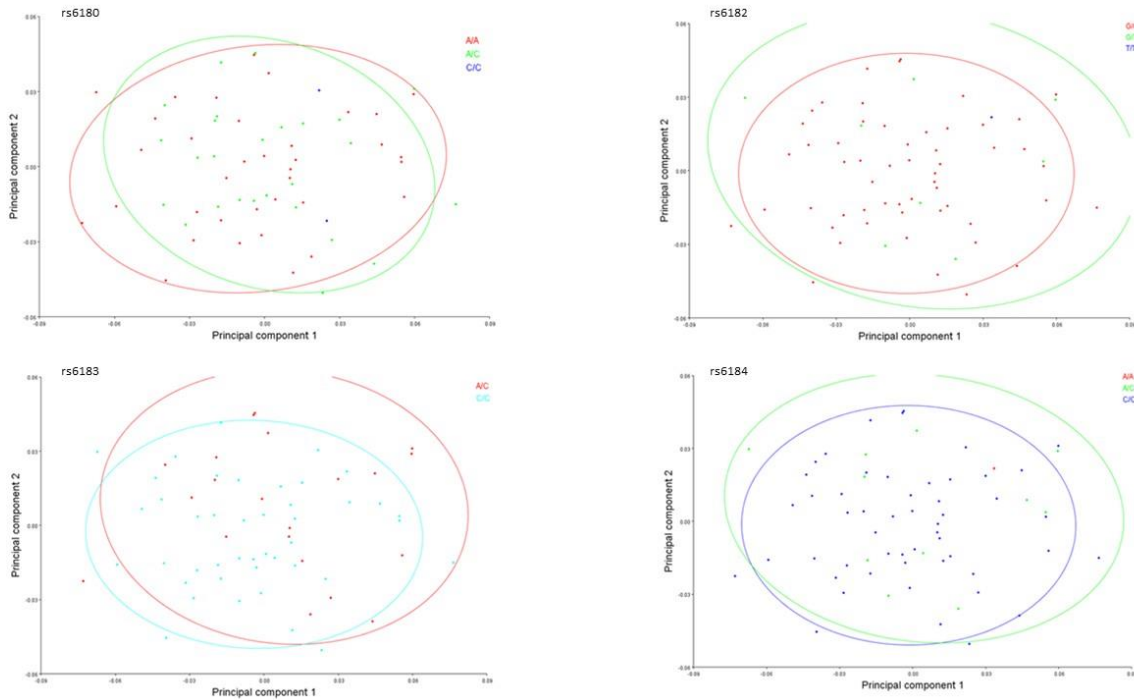


Figura 35. Análisis de componentes principales de módulo Neurocraneal (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

4.2.2 Variación en la hipótesis de modulo facial

El segundo módulo derivado de la configuración Cabeza bajo el análisis jerarquizado es el módulo facial que corresponde a una configuración construida a partir de 13 de los 28 landmarks (Tabla 5). El análisis de componentes principales a partir de la matriz de covarianza para el componente simétrico del módulo facial arrojó que la primera componente principal (PC1) explica el 25.785% de la varianza y la segunda componente principal (PC2) explica el 14.669% (Tabla 13).

Tabla 13. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del PCA sobre el componente simétrico del módulo facial.

Componente Principal	Eigenvalores	Porcentaje de Varianza explicada	Porcentaje de Varianza acumulada
1	0.00112073	25.785	25.785
2	0.00063759	14.669	40.455
3	0.00046262	10.644	51.099
4	0.00044917	10.334	61.433
5	0.00031107	7.157	68.59
6	0.00027825	6.402	74.992
7	0.00024567	5.652	80.644
8	0.00021089	4.852	85.496
9	0.0001639	3.771	89.267
10	0.00011088	2.551	91.818
11	0.00010049	2.312	94.13
12	0.00005811	1.337	95.467
13	0.00005238	1.205	96.672
14	0.00003972	0.914	97.586
15	0.00003183	0.732	98.318
16	0.00003171	0.73	99.048
17	0.00002409	0.554	99.602
18	0.00001728	0.398	100

En el gráfico de dispersión de las componentes principales (Figura 36) podemos observar que los individuos se distribuyen en un gradiente amplio de variación facial que es mayor en el eje de la primera componente principal (PC1) respecto de la segunda componente principal (PC2) y se puede apreciar qué hacia los valores negativos de la PC1, se encuentran un grupo de individuos, aunque sin aparente agrupación natural respecto a la segunda componente principal.

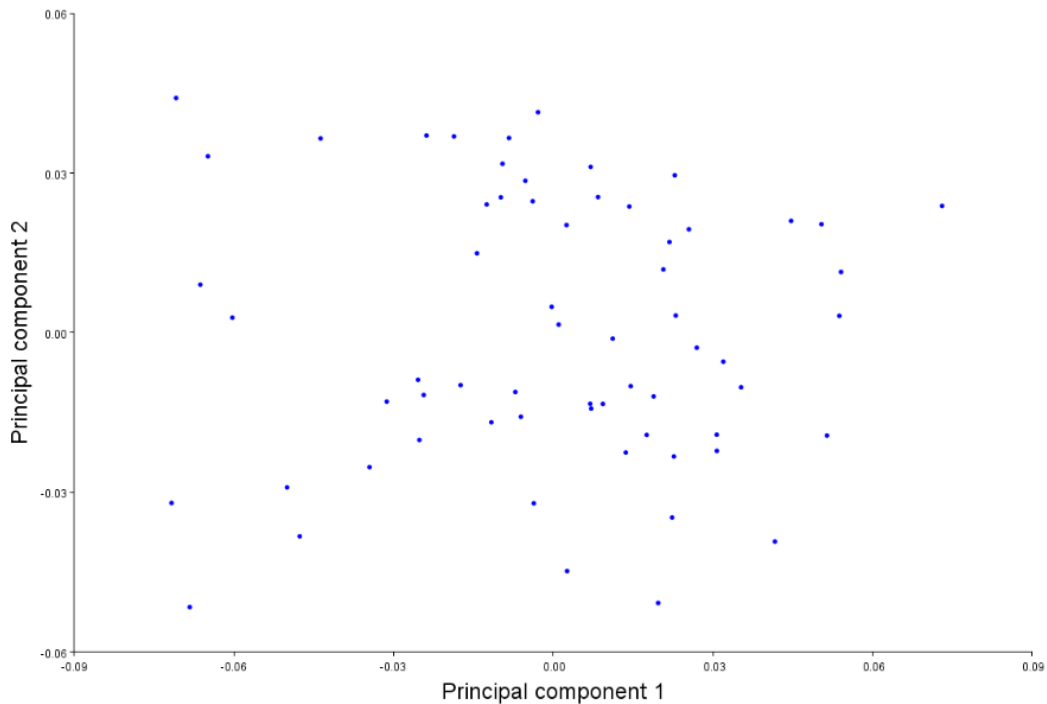


Figura 36. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales del módulo facial (PCA1 Y PCA2).

La Figura 37 muestra los polígonos asociados a los cambios morfológicos de la región facial a lo largo de las primeras dos componentes principales. En la primera componente (PC1) se puede observar que el cambio morfológico está principalmente guiado por una mayor altura facial en la región nasal al igual que una menor anchura y una protrusión de la región del mentón y un mayor ángulo del cuerpo mandibular hacia la región poscraneal y un ángulo de la rama mandibular hacia la región anterior hacia los valores positivos, mientras que hacia los negativos se asocia un cambio morfológico facial relacionado con una menor altura en la región nasal, una retrusión del ángulo del cuerpo mandibular y una menor proyección de la región del mentón. Por su parte, en la segunda componente principal (PC2) se aprecia hacia los valores positivos, una menor altura facial en la región nasal, al igual que una retrusión en la región del mentón y un ángulo de la

rama mandibular que se proyecta hacia atrás. Por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una mayor altura facial en la región nasal, una protrusión en la región del mentón y una mayor proyección anterior del ángulo de la rama mandibular.

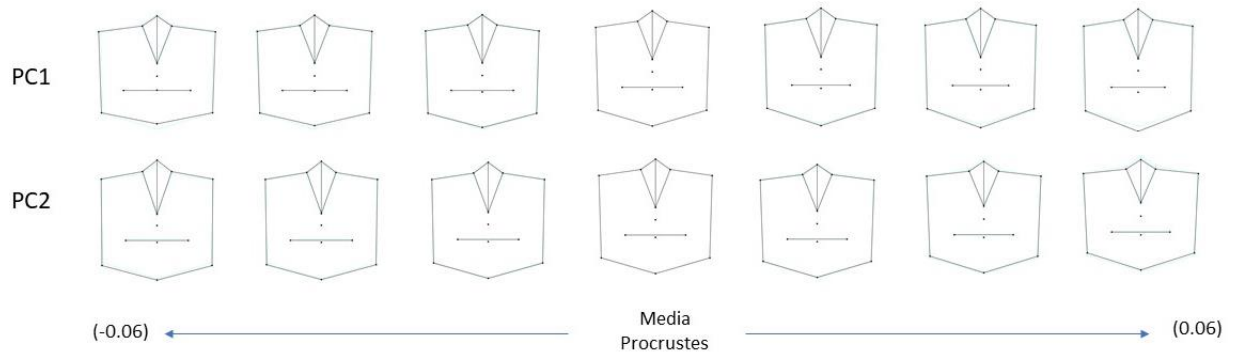


Figura 37. Variación del cambio en la forma de la región facial asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Respecto al cambio morfológico facial asociado a cada uno de los polimorfismos del gen GHR analizados, en la Figura 38 se puede observar que los portadores de los genotipos de los polimorfismos rs6180, rs6183 presentan una dispersión aleatorizada a lo largo de los ejes de variación de las componentes principales. No obstante, los individuos portadores del genotipo C/T del polimorfismo rs6182 y los individuos portadores del genotipo A/C del polimorfismo rs6184 muestran una tendencia hacia los valores positivos de la PC1 que se asocian a una mayor altura facial en la región nasal al igual que una menor anchura y una protrusión de la región del mentón y un mayor ángulo del cuerpo mandibular hacia la región poscraneal y un ángulo de la rama mandibular hacia la región anterior.

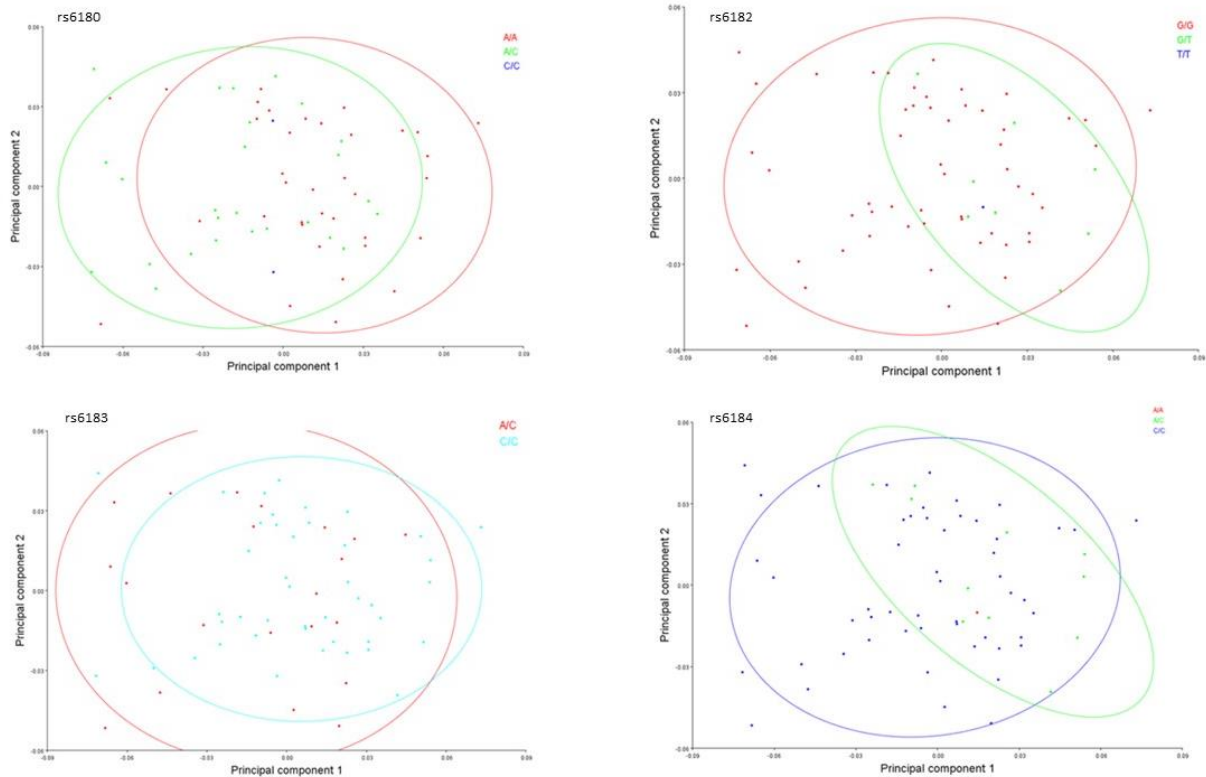


Figura 38. Análisis de componentes principales del módulo facial (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

4.2.3 Variación en la hipótesis de modulo mandibular

El ultimo módulo derivado de la configuración Cráneo bajo el análisis jerarquizado es la hipótesis de modulo mandibular y corresponde a una configuración construida a partir de 10 de los 28 landmarks (Tabla 5). A partir de los datos generados por el GPA se generó una matriz de covarianza para el componente simétrico de la configuración mandibular y subsecuentemente se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA). La primera componente principal explica el 25.202% de la varianza mientras que la segunda componente principal (PC2) explica el 15.618% (Tabla 14).

Tabla 14. Eigenvalores, porcentaje de varianza explicada y porcentaje de varianza acumulada del PCA sobre el componente simétrico del módulo mandibular.

Componente Principal	Eigenvalores	Porcentaje de Varianza explicada	Porcentaje de Varianza acumulada
1	0.00088811	25.202	25.202
2	0.00055038	15.618	40.82
3	0.00046837	13.291	54.111
4	0.00040421	11.47	65.582
5	0.00029253	8.301	73.883
6	0.0002463	6.989	80.872
7	0.00017436	4.948	85.82
8	0.00014713	4.175	89.995
9	0.00012147	3.447	93.442
10	0.00009959	2.826	96.268
11	0.00008293	2.353	98.621
12	0.00004859	1.379	100

En el gráfico de dispersión de las primeras dos componentes principales del PCA para el módulo mandibular (Figura 39) podemos observar que los individuos se distribuyen a lo largo de los ejes de mayor variación en un gradiente amplio de variación sin una aparente agrupación natural que, además, es menor en el eje de la primera componente principal (PC1) respecto de la segunda componente principal (PC2). Por otra parte, se puede apreciar que en el eje de la segunda componente principal los individuos presentan una tendencia hacia valores positivos menores a 0.03 mientras que en los valores negativos sobrepasan los valores -0.03 de la PC2.

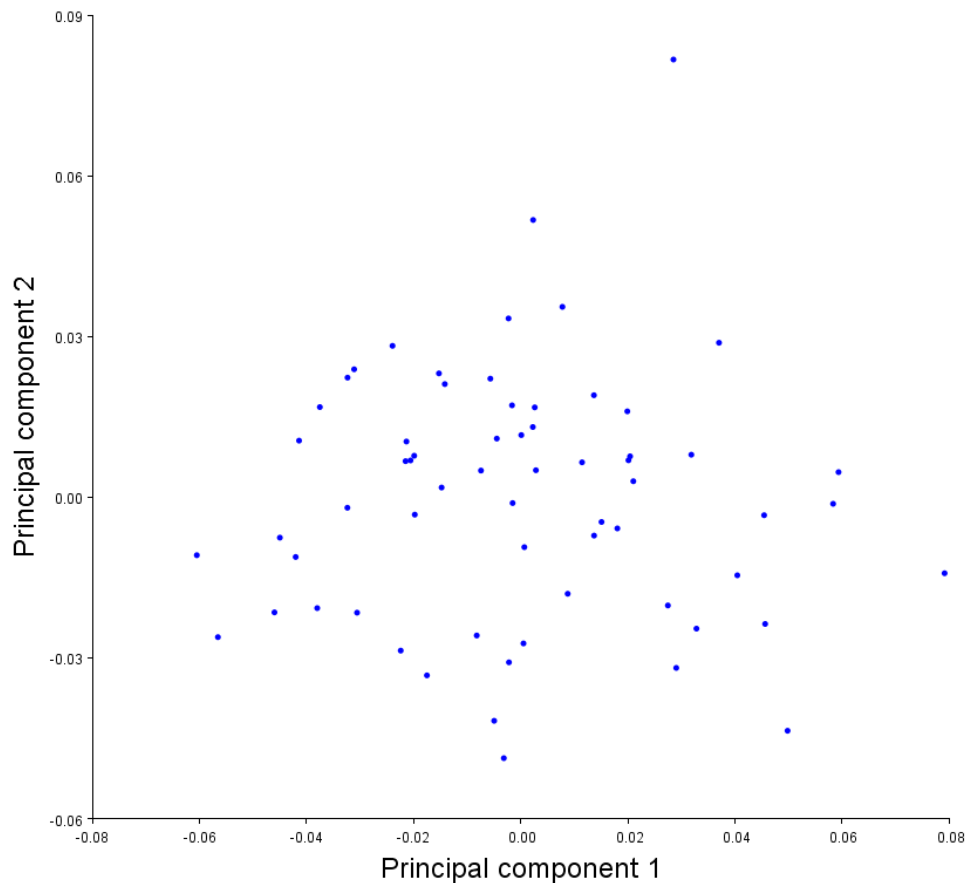


Figura 39. Gráfico de dispersión del análisis de componentes principales del módulo mandibular (PCA1 Y PCA2).

La Figura 40 muestra los polígonos asociados a los cambios morfológicos asociados a lo largo de las componentes principales. En la primera componente (PC1) se puede observar que el cambio en la forma está principalmente guiado por una mayor protrusión del mentón mandibular que además presenta mayor altura en el tercio medio inferior y un ángulo de la rama mandibular más cerrado hacia la región facial al igual que una proyección en la región bucal hacia los valores positivos, mientras que hacia los negativos se asocia un cambio morfológico mandibular relacionado con una retrusión y sin mayor altura o proyección en la región bucal y un ángulo mandibular más abierto hacia la región poscraneal. Por su parte, en la segunda componente principal (PC2) se aprecia hacia los valores positivos, un ángulo de la

rama mandibular abierto hacia la región poscraneal y una protrusión del cuerpo mandibular hacia la región del mentón. Naturalmente, hacia los valores negativos se aprecia un ángulo de la rama mandibular cerrado hacia la parte facial y una retrusión del cuerpo mandibular hacia la región poscraneal al igual que una mayor altura de la región del tercio inferior facial.

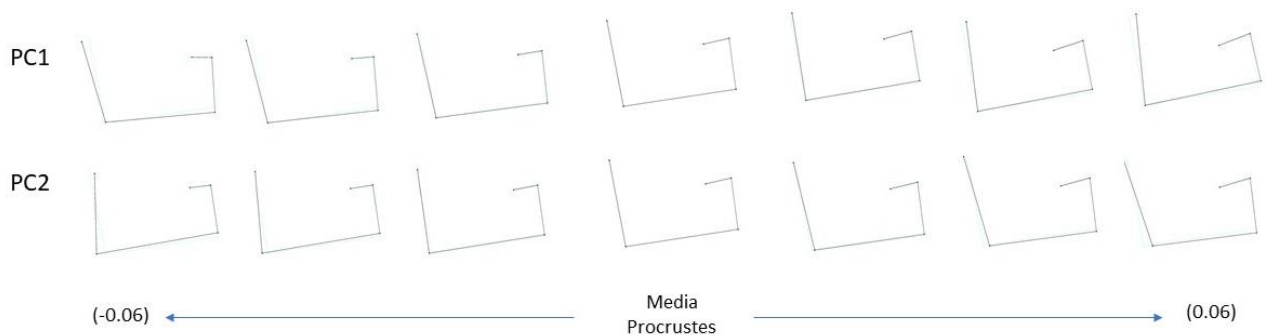


Figura 40. Variación del cambio en la forma de la región mandibular asociada a la primera (PC1) y segunda (PC2) componentes principales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

En cuanto al cambio morfológico mandibular asociado a cada uno de los polimorfismos del gen GHR analizados, en la Figura 41 se puede observar que los portadores de los genotipos de los polimorfismos rs6180, rs6183 presentan una dispersión aleatorizada a lo largo de los ejes de variación de las componentes principales y resalta el hecho de que algunos de los individuos portadores del genotipo A/C del polimorfismo rs6180 tienden hacia los valores más altos en el eje del PC1. No obstante, los individuos portadores del genotipo C/T del polimorfismo rs6182 y del genotipo A/C del polimorfismo rs6184 muestran una tendencia a agruparse entre los valores -0.03 y 0.02 de las dos componentes(PC1 y PC2), que se asocian, en la primera componente principal a menor apertura o cierre del ángulo

de la rama mandibular y a retrusión y protrusión del mentón en la región inferior facial, mientras que el cambio morfológico asociado a la PC2 está asociado a la retrusión y protrusión mandibular y al aumento en la altura de la región inferior facial.

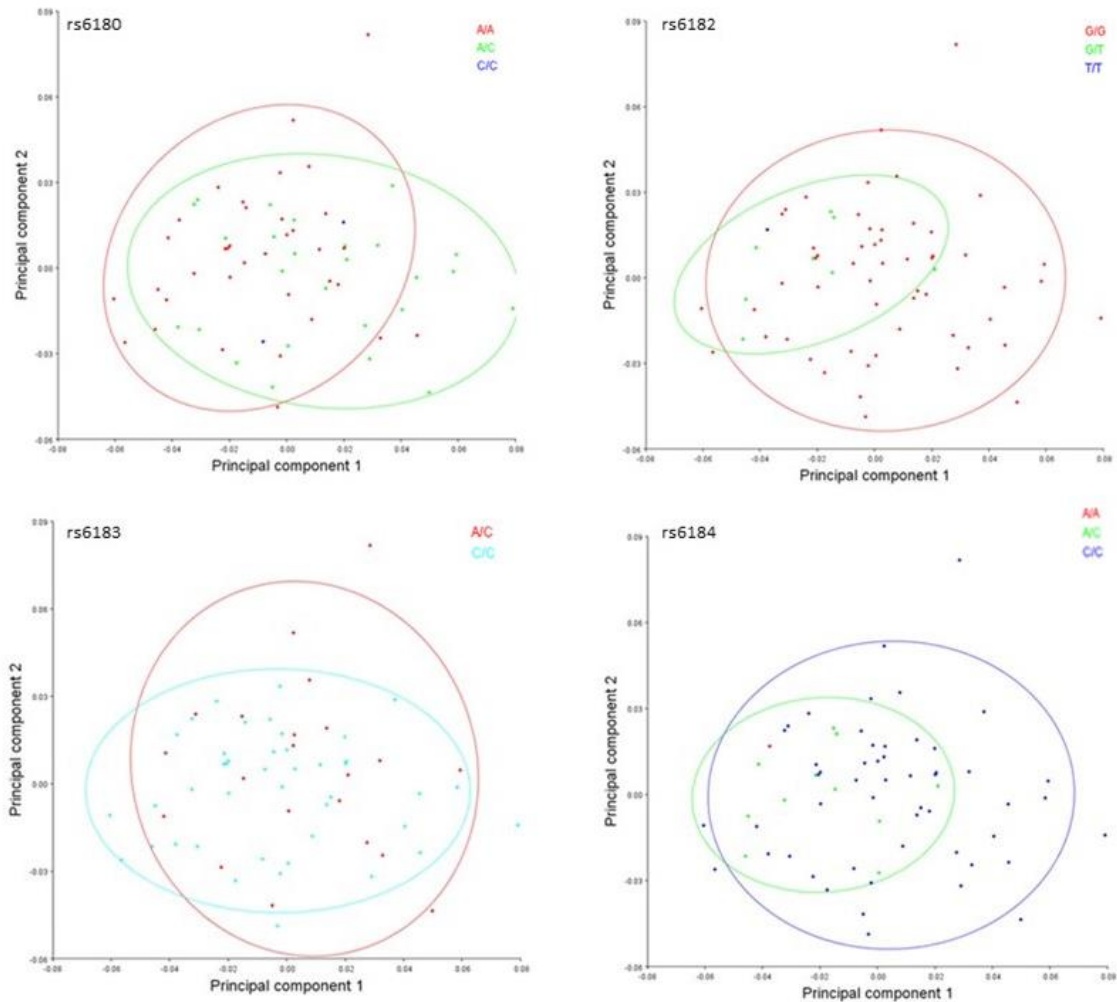


Figura 41. Análisis de componentes principales del módulo mandibular (PC1 Y PC2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

4.3 Análisis de mínimos cuadrados parciales

Para explorar la influencia de que los polimorfismos del gen GHR respecto de alteraciones en los patrones normales de Integración Morfológica se utilizaron los patrones de covariación entre módulos craneales (neurocráneo, cara y mandíbula) para llevar a cabo un análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS, por sus siglas en inglés). El PLS calcula las combinaciones lineales de covarianza maximizada utilizando el método de descomposición del valor singular para maximizar la representación de baja dimensión de la estructura de covarianza entre bloques (Goswami and Polly, 2010a), es decir entre los módulos neurocraneal, facial y mandibular. El software *MorphoJ* lleva a cabo el PLS y además calcula el coeficiente RV *multiset* que representa la cantidad total de la covarianza, escalada por la cantidad de variación entre dos conjuntos de variables (Klingenberg, 2009).

Tabla 15. Resultados del test de modularidad de Klingenberg, (2011). Se presentan datos de los coeficientes RV multi-set, numero de particiones y proporciones.

Hipótesis	Coficiente multi-set	RV p	Porcentaje total de Covarianza	Corr PLS1	p
Facial-Neurocraneal	0.1841	0.0056	38.479	0.52575	0.1463
Neurocraneal-Mandíbula	0.2754	<.0001	42.226	0.7054	<.0001
Facial-Mandibular	0.6798	<.0001	54.333	0.92578	<.0001

Como se puede observar en la Tabla 15, para las comparaciones entre hipótesis de módulos anatómicos, el análisis de PLS arrojó los coeficientes RV *multi-set* y el porcentaje total de covarianza para las comparaciones entre módulos; Facial-Neurocraneal, Neurocraneal-Mandibular y Facial-Mandibular lo que permite medir

sí estos módulos covarían entre ellos. Si los patrones de variación de los módulos comparados covarían entre ellos entonces se puede asumir que están en Integración Morfológica. Por lo tanto, el coeficiente RV del análisis de PLS para los módulos Facial y Neurocraneal y Neurocraneal-Mandibular es baja. Por otra parte, la covariación entre los módulos Facial y mandibular es alta (RV=0.6798) y además estadísticamente significativa ($P<.0001$) y la correlación entre el espacio geométrico del módulo facial y mandibular en el análisis de PLS es alta (0.92578) y estadísticamente significativa ($P<.0001$).

4.3.1 Análisis de mínimos cuadrados parciales ente el módulo Facial y el Neurocraneal

Para el espacio morfológico total, el análisis de PLS entre el módulo facial y el módulo neurocraneal arrojó que el primer par de ejes (PLS1) explican el 38.479% de la covarianza total (Tabla 16) mientras que la asociación entre el módulo facial y neurocraneal es baja (RV=0.1841) aunque estadísticamente significativa ($P=0.0056$) y la correlación entre el espacio geométrico del módulo facial y neurocraneal en el análisis de PLS es moderada (0.52575).

Tabla 16. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Neurocraneal.

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.00039533	0.0939	38.479	0.52575	0.1463
PLS2	0.00030271	0.013	22.56	0.67982	0.0002
PLS3	0.00023018	0.0126	13.044	0.45828	0.5198
PLS4	0.00020114	0.0015	9.961	0.53663	0.0626
PLS5	0.00017992	<.0001	7.97	0.46408	0.2404
PLS6	0.00009845	0.6083	2.387	0.48128	0.0774

PLS7	0.00008733	0.3525	1.878	0.43036	0.1562
PLS8	0.00007262	0.3347	1.299	0.41327	0.1211
PLS9	0.00006188	0.22	0.943	0.38712	0.14
PLS10	0.00005018	0.2334	0.62	0.42902	0.0169
PLS11	0.00003987	0.2715	0.391	0.31884	0.2428
PLS12	0.00003074	0.3747	0.233	0.26594	0.4342
PLS13	0.00002211	0.5961	0.12	0.25647	0.2908
PLS14	0.00001731	0.4982	0.074	0.25302	0.1229
PLS15	0.00000921	0.8967	0.021	0.18283	0.2203
PLS16	0.00000826	0.3823	0.017	0.09154	0.57
PLS17	0.00000397	0.3484	0.004	0.04711	0.4378

En cuanto a la dispersión de los individuos en el espacio de cambio morfológico, en la Figura 42 se puede observar que los individuos se distribuyen en un gradiente amplio de variación entre los ejes del módulo facial (PLS1-1) y del módulo neurocraneal (PLS1-2) sin aparentes agrupaciones naturales.

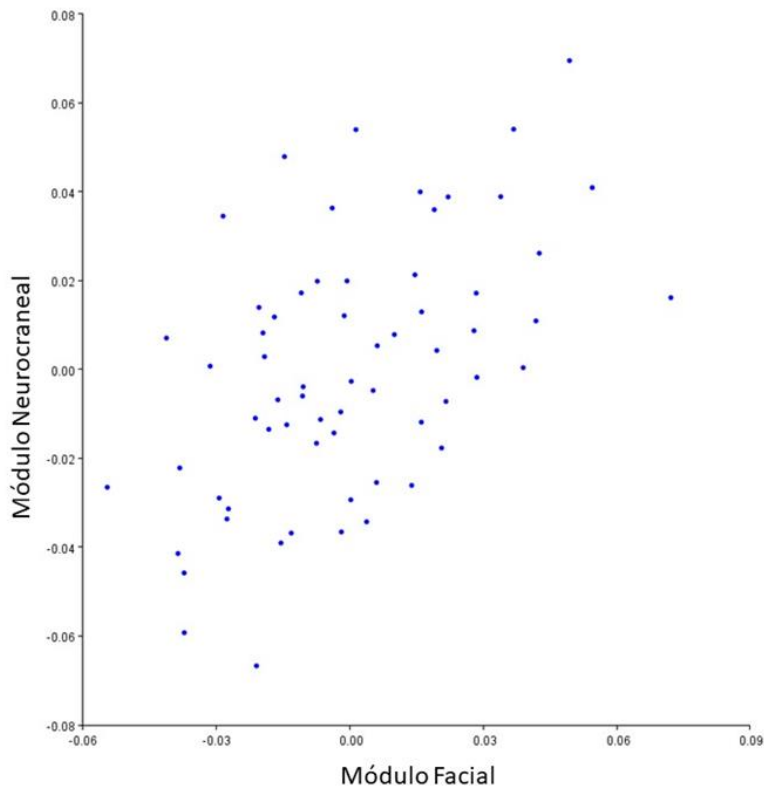


Figura 42. Gráfico de dispersión del análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial y Neurocraneal (PLS1-1 Y PLS1-2).

Respecto al cambio morfológico, en la Figura 43 se pueden observar los polígonos asociados a los cambios morfológicos a lo largo de las primeras dos componentes principales. En el primer eje (PLS1-1), el cambio en la forma está principalmente guiado por una menor proyección del mentón, una mayor anchura en la región de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular que se reduce hacia los zigomáticos y una menor altura facial en la región nasal hacia los valores positivos, mientras que hacia los valores negativos se asocia una mayor proyección de la región del mentón, una altura facial mayor en la región bucal y nasal, una reducción de la anchura en la región de la articulación del cuerpo y rama mandibular y una apertura en la región de los zigomáticos.

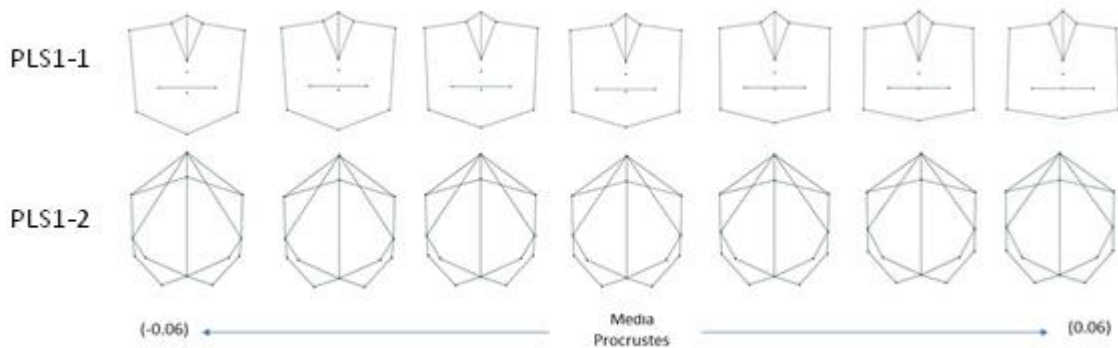


Figura 43. Variación del cambio en la forma de asociado a las regiones facial (PLS1-1) y neurocraneal (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

En cuanto a los cambios asociados al segundo eje (PLS1-2) se aprecia una menor altura neurocraneal y una menor proyección de la región occipital al igual que una menor anchura neurocraneal hacia los valores positivos. Naturalmente, hacia los

valores negativos se aprecia una mayor altura neurocraneal y una mayor proyección de la región occipital y cráneos con mayor anchura neurocraneal.

Por otra parte, en la figura 44 se puede apreciar el cambio morfológico asociado al PLS2. En el primer eje (PLS 2-1), el cambio en la forma esta principalmente guiado por una mayor proyección del mentón, una mayor anchura facial en la región de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular que se reduce hacia los zigomáticos y una menor altura facial en la región nasal hacia los valores positivos, mientras que hacia los valores negativos se asocia una menor proyección de la región del mentón, una altura facial menor en la región bucal y mayor en la región nasal, una reducción de la anchura facial en la región de la articulación del cuerpo y rama mandibular y una apertura en la región de los zigomáticos. En cuanto a los cambios asociados al segundo eje (PLS2-2) se aprecia una menor altura neurocraneal y una menor proyección de la región occipital al igual que una mayor anchura neurocraneal hacia los valores positivos. Naturalmente, hacia los valores negativos se aprecia una mayor altura neurocraneal y una mayor proyección de la región occipital y cráneos con menor anchura neurocraneal.

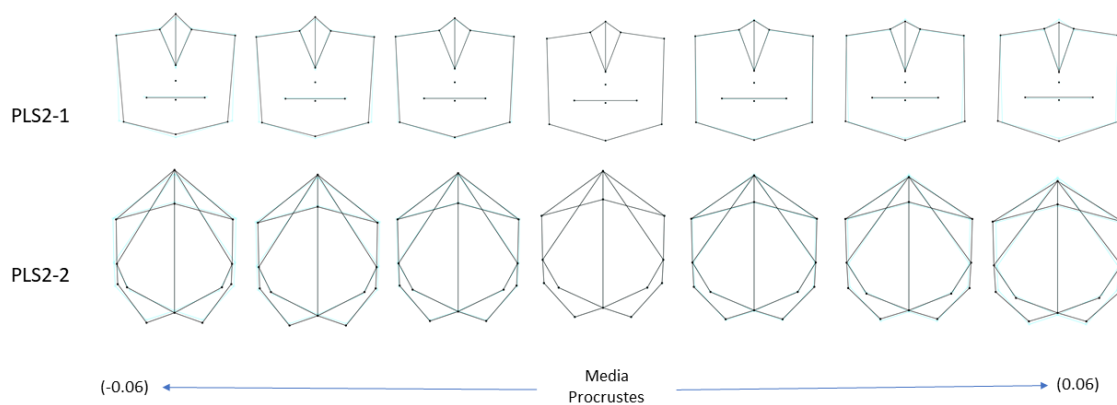


Figura 44. Variación del cambio en la forma de asociado a las regiones facial (PLS2-1) y neurocraneal (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

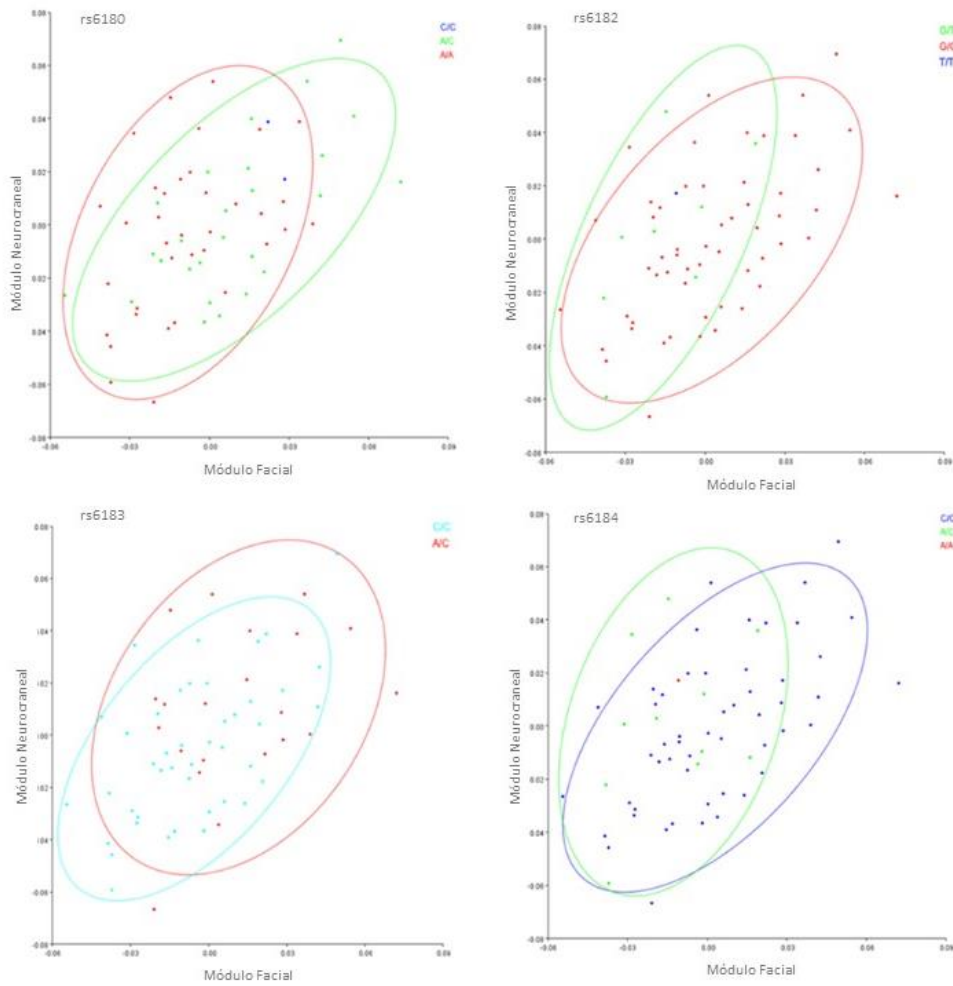


Figura 45. Análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial (PLS1-1) y Neurocranial (PLS1-2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

Por otra parte, en la Figura 45 se puede observar el cambio morfológico asociado a los polimorfismos del gen GHR analizados; primeramente, se puede observar que los individuos con el genotipo A/C del polimorfismo rs6183 se dispersan de manera aleatorizada en el eje del PLS1-1 y PLS1-2, mientras que los individuos con genotipo CC tienden a agruparse hacia los valores negativos de los dos ejes y en menor medida hacia los valores positivos. Respecto al polimorfismo rs6180, los heterocigotos A/C tienden a una mayor dispersión en los ejes del PLS1-1 y PLS1-2 respecto de los homocigotos AA. Por otra parte, los portadores homocigotos G/G

del polimorfismo rs6182 y para los homocigotos C/C del polimorfismo rs6184 muestran una dispersión mayor en los ejes de variación respecto de los portadores de genotipos heterocigotos.

4.3.2 Análisis de mínimos cuadrados parciales entre el módulo Neurocraneal- y el módulo Mandibular

Respecto al análisis de PLS entre el módulo neurocraneal y mandibular, el primer par de ejes (PLS1) explican el 42.226% de la covarianza total (Tabla 17), y la asociación entre el módulo neurocraneal y mandibular es baja (RV= 0.2754) pero estadísticamente significativa ($P < .0001$).

Tabla 17. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Neurocraneal y Mandibular

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.00046438	0.0025	42.226	0.7054	0.0001
PLS2	0.00031007	0.0006	18.826	0.63152	0.0025
PLS3	0.00030523	<.0001	18.243	0.66926	<.0001
PLS4	0.00020053	<.0001	7.874	0.49807	0.0946
PLS5	0.0001693	<.0001	5.613	0.60122	0.0004
PLS6	0.00012199	0.0011	2.914	0.55554	0.0009
PLS7	0.00009464	0.0054	1.754	0.46778	0.0192
PLS8	0.00007468	0.0134	1.092	0.34502	0.2692
PLS9	0.00006119	0.0105	0.733	0.3352	0.1409
PLS10	0.00004446	0.0492	0.387	0.30314	0.1032
PLS11	0.00003821	0.0071	0.286	0.36704	0.001
PLS12	0.00001639	0.4357	0.053	0.17667	0.1551

En el gráfico de dispersión del análisis de PLS para los módulos neurocraneal y mandibular (Figura 46) se puede observar una dispersión de los individuos en un gradiente de variación que tiende a concentrarse hacia los valores negativos de los ejes del PLS1-1 y el PLS1-2, aunque sin aparentes agrupaciones naturales.

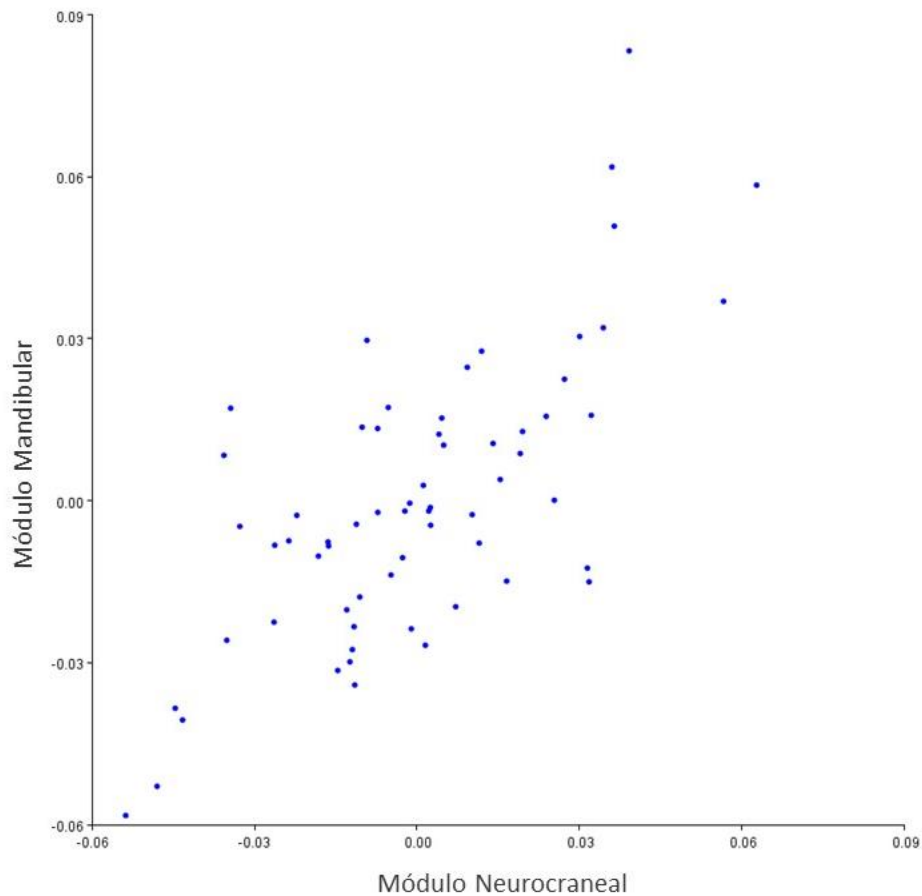


Figura 46. Gráfico de dispersión del análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Neurocraneal y Mandibular (PLS1-1 Y PLS1-2).

Por otra parte, en la Figura 47 se puede observar los polígonos asociados al cambio morfológico a lo largo de los primeros dos ejes del PLS1. En el primer eje (PLS1-1), el cambio en la forma está principalmente guiado por una menor proyección frontal y una mayor anchura neurocraneal tanto en la parte frontal como occipital hacia los

valores positivos, mientras que hacia los valores negativos se asocia una mayor proyección de la región frontal, una menor anchura neurocraneal en la parte frontal y una reducción de la proyección en la región occipital. Por otra parte, los cambios asociados al segundo eje (PLS 1-2) corresponden a un cierre del ángulo de la rama mandibular, mayor altura de la región bucal y una reducción de la protrusión del mentón hacia los valores positivos. Consecuentemente, hacia los valores negativos se aprecia una apertura del ángulo de la rama mandibular hacia la región occipital, un aumento en la protrusión del mentón y una menor altura de la región bucal.

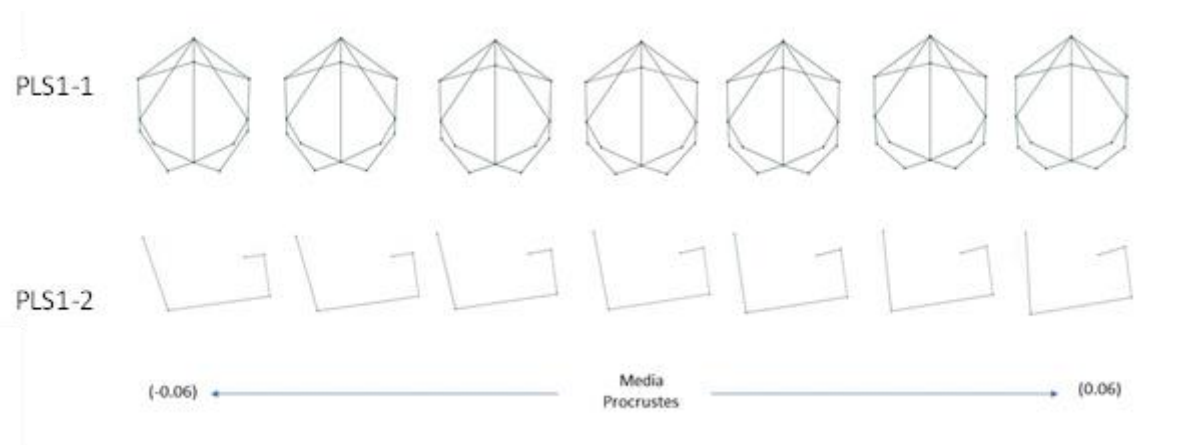


Figura 47. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones neurocraneal (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Por otra parte, en la Figura 48 se pudo observar los polígonos asociados al cambio morfológico a lo largo de los primeros dos ejes del PLS2. En el primer eje (PLS2-1), el cambio en la forma está principalmente guiado por una mayor altura del neurocráneo, menor anchura neurocraneal y una mayor proyección en la parte frontal hacia los valores positivos, mientras que hacia los valores negativos se asocia una menor proyección de la región frontal, una mayor anchura neurocraneal

y una mayor altura del neurocráneo. Por otra parte, los cambios asociados al segundo eje (PLS 2-2) corresponden a menor altura de la región bucal y una mayor proyección y altura de la protrusión del mentón hacia los valores positivos. Consecuentemente, hacia los valores negativos se aprecia una disminución de la altura de la rama mandibular, una reducción en la altura del mentón y una mayor altura de la región bucal.

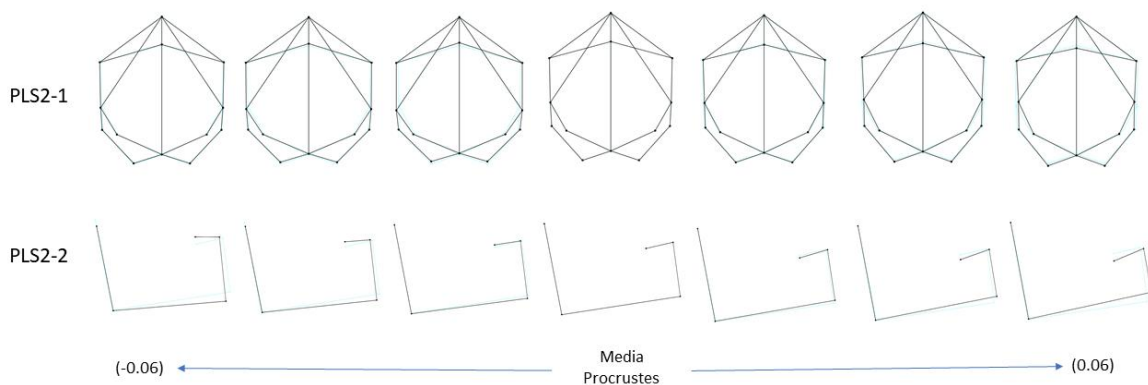


Figura 48. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones neurocraneal (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

En cuanto al cambio morfológico mandibular asociado a cada uno de los polimorfismos del gen GHR analizados, en la Figura 49 se puede observar que los portadores del genotipo heterocigoto para los polimorfismos, rs6183 y rs6184 presentan una menor dispersión a lo largo de los dos ejes de variación respecto de los genotipos homocigotos. Por otra parte, lo contrario sucede con los polimorfismos rs6180, rs6182 y rs6184 los portadores de los genotipos A/A (rs6180), G/T (rs6182) y A/C (rs6184) se dispersan entre los valores -0.06 y 0.03 del PLS1-2 en comparación con los portadores del genotipo heterocigoto A/C lo cual está

relacionado a una apertura del ángulo de la rama mandibular, un aumento en la altura de la región del mentón y una reducción de la altura de la región bucal hacia los valores negativos, mientras que hacia los valores positivos se observa un cierre del ángulo de la rama mandibular, una disminución de altura en la región de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y un aumento de la altura de la región bucal.

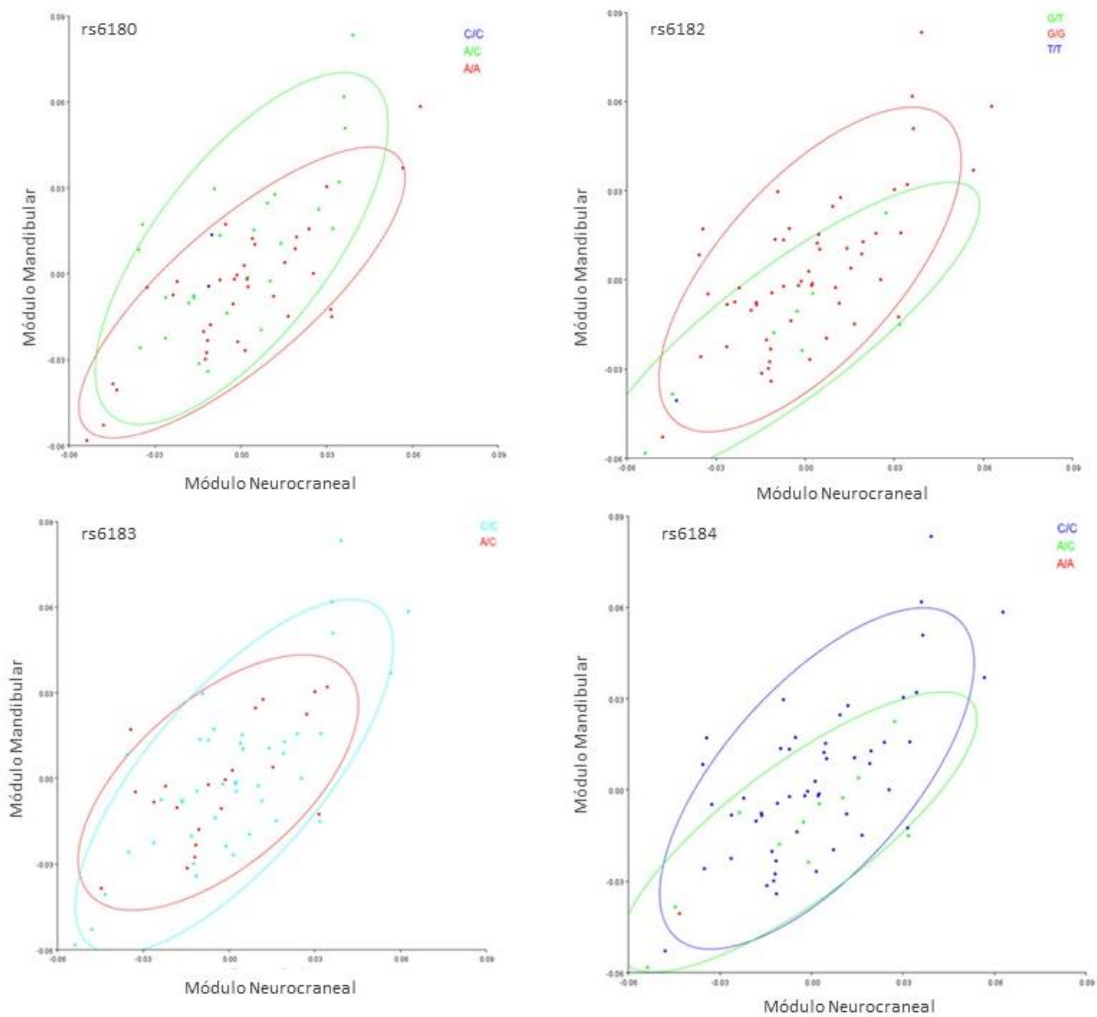


Figura 49. Análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Neurocraneal (PLS1-1) y Mandibular (PLS1-2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

4.3.3 Análisis de mínimos cuadrados parciales entre el módulo Facial-Mandibular

En cuanto al análisis de PLS entre el módulo facial y el módulo mandibular arrojó que el primer par de ejes (PLS1) explican el 54.333% de la covarianza total (Tabla 18) mientras que la asociación entre el módulo es alta (RV= 0.6798) y además es estadísticamente significativa ($P < .0001$). Respecto al gráfico de dispersión del análisis de PLS, en la Figura 50 se observa que la distribución de los individuos en el gradiente de variación a lo largo de los dos ejes de cambio morfológico facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) es mucho menor que en los otros análisis, aunque sin aparentes agrupaciones naturales.

Tabla 18. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.00086611	<.0001	54.333	0.92578	<.0001
PLS2	0.0005151	<.0001	19.217	0.90352	<.0001
PLS3	0.00034493	<.0001	8.617	0.85591	<.0001
PLS4	0.00032736	<.0001	7.762	0.84982	<.0001
PLS5	0.00024923	<.0001	4.499	0.81485	<.0001
PLS6	0.00017059	<.0001	2.108	0.69517	<.0001
PLS7	0.00016287	<.0001	1.921	0.70018	<.0001
PLS8	0.00010664	<.0001	0.824	0.81674	<.0001
PLS9	0.0000615	0.0225	0.274	0.42719	0.0031
PLS10	0.00006025	<.0001	0.263	0.66309	<.0001
PLS11	0.0000372	0.021	0.1	0.26694	0.0869
PLS12	0.00003363	0.0003	0.082	0.23237	0.0403

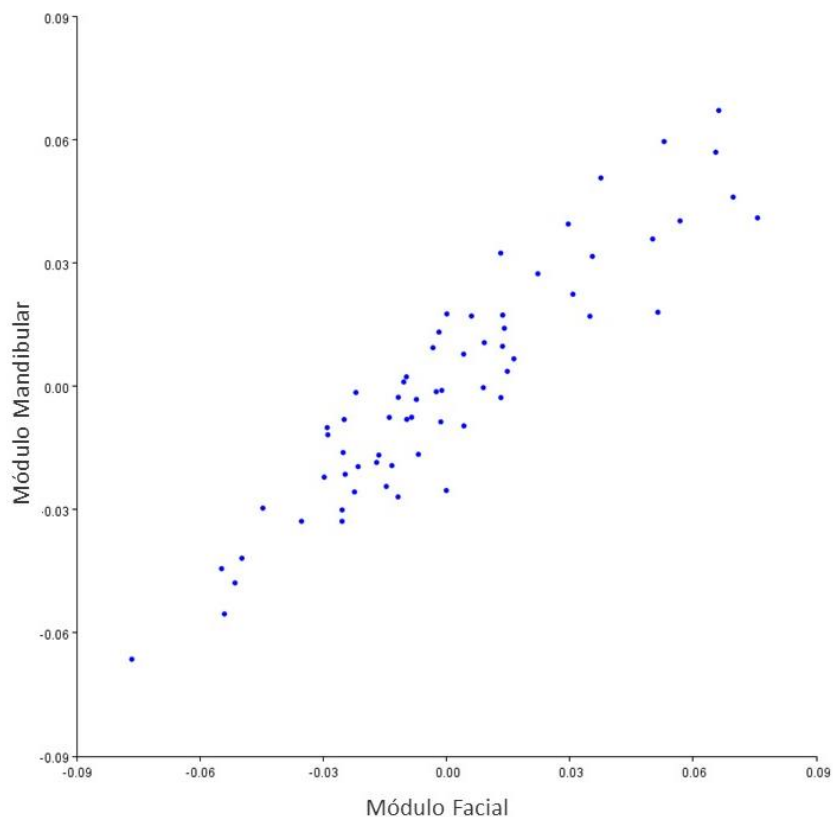


Figura 50. Gráfico de dispersión del análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial y Mandibular (PLS1 Y PLS2).

La Figura 51 muestra los polígonos asociados a los cambios morfológicos a lo largo de los dos primeros ejes del PLS1. Los cambios asociados al módulo facial (PLS1-1) corresponden a una retrusión de la región del mentón, una mayor anchura facial hacia la articulación de la rama mandibular y los zigomáticos, y una menor altura facial hacia los valores positivos. En cuanto a los valores negativos se aprecia una protrusión de la región del mentón, y una reducción de la anchura facial acompañada de un aumento en la altura facial en la región nasal. A su vez, los cambios asociados al módulo mandibular (PLS1-2) se asocian a un ángulo de la rama mandibular cerrado, una protrusión que además presenta una proyección hacia arriba acompañada de una reducción en la altura de la región bucal hacia los valores positivos, mientras que, hacia los valores negativos, se observan un ángulo

abierto de la rama mandibular, una retrusión y disminución de la altura del mentón y un aumento de la altura de la región bucal

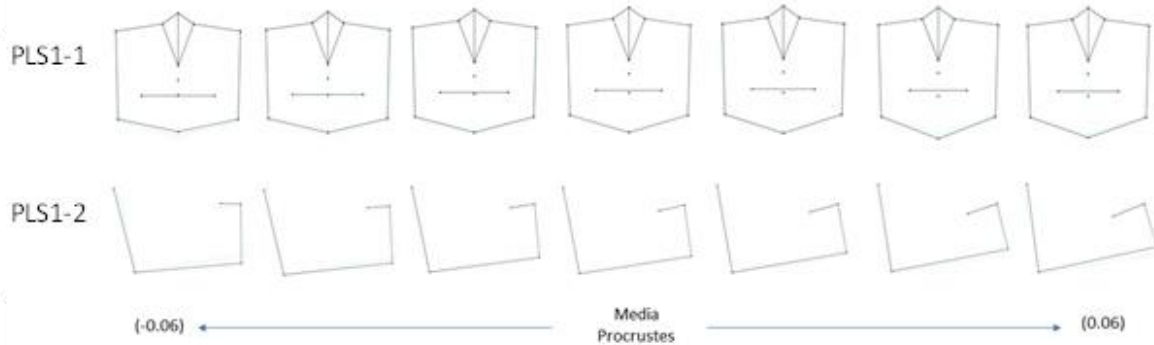


Figura 51 . Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Por otra parte, en la Figura 52 se puede observar los polígonos asociados al cambio morfológico a lo largo de los primeros dos ejes del PLS2. En el primer eje (PLS2-1), el cambio en la forma está principalmente guiado por una mayor proyección del mentón y una mayor altura facial en la región nasal hacia los valores positivos, mientras que hacia los valores negativos se asocia una menor proyección de la región del mentón y una menor altura facial en la región nasal. Por otra parte, los cambios asociados al segundo eje (PLS 2-2) corresponden a proyección del ángulo de articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, y una menor proyección y altura de la región del mentón menor hacia los valores positivos. Consecuentemente, hacia los valores negativos se aprecia un cierre del ángulo de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, y una mayor altura y proyección de la región del mentón.

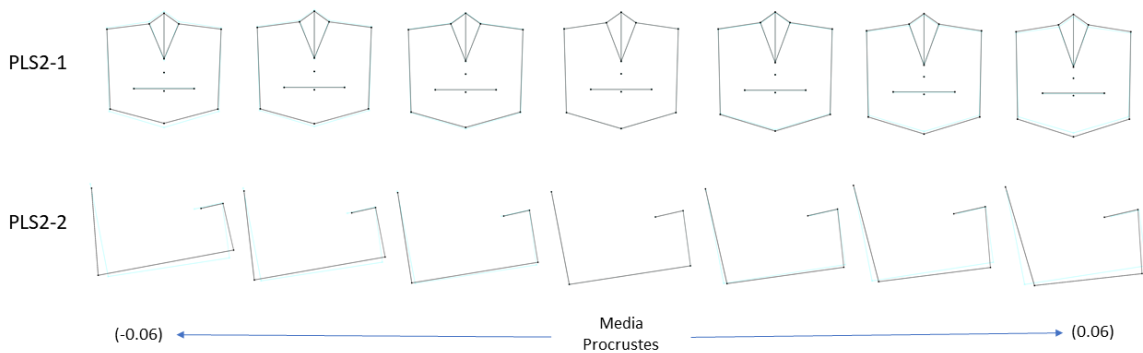


Figura 52. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Respecto al cambio morfológico asociado a cada uno de los polimorfismos del gen GHR analizados, en la Figura 53 se puede observar que los portadores de los genotipos del polimorfismo rs6183 se distribuyen de manera aleatoria sin aparente agrupación mientras que los homocigotos A/A del polimorfismo rs6180 tienden a agruparse en el rango de -0.04 a 0.04 de los dos ejes. Por otra parte, los heterocigotos G/T del polimorfismo rs6182 y los heterocigotos A/C del polimorfismo rs6184 se agrupan en los valores negativos con una tendencia hacia los primeros valores positivos en los dos ejes, lo cual se asocia a la retrusión o protrusión del mentón, anchura en la región de la rama mandibular y los zigomáticos y a aumento o disminución en altura facial en la región nasal en el eje del PLS1-1, mientras que en el eje del PLS1-2 se asocia a cambios en el ángulo de la rama mandibular, altura de la región del mentón y altura de la región bucal.

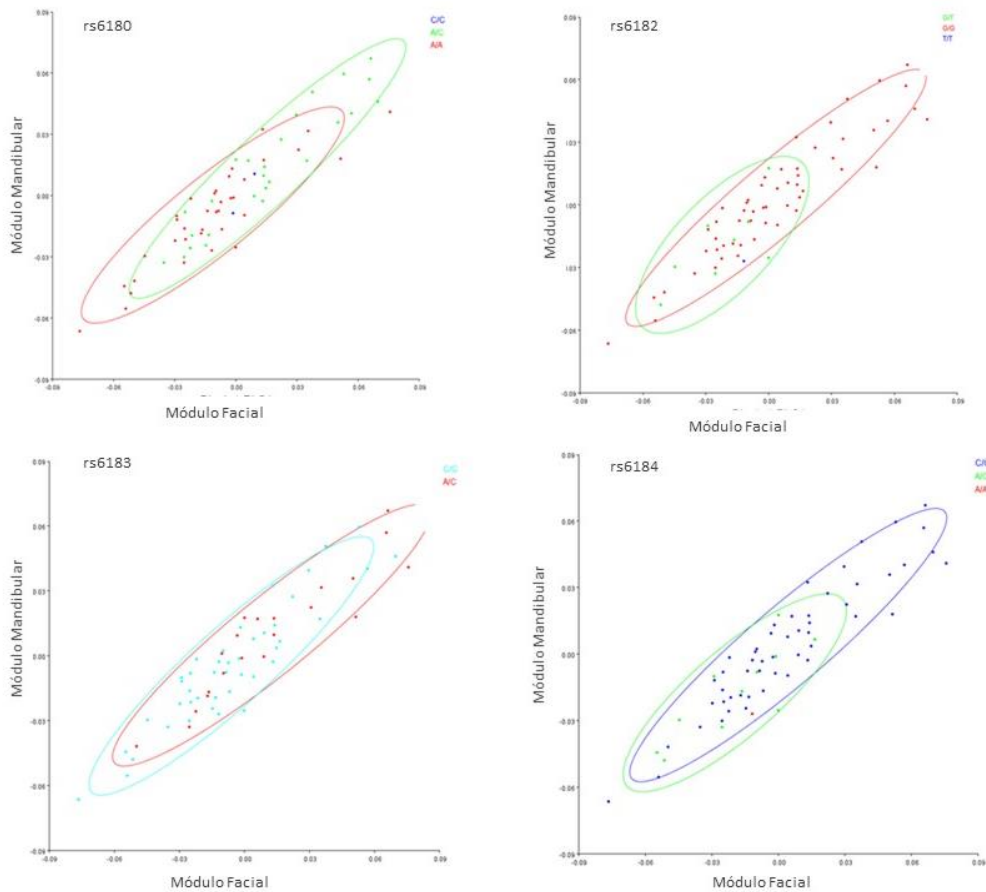


Figura 53. Análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial (PLS1-1) y Mandibular (PLS1-2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa (probabilidad 0.09) para los cuatro genotipos del gen GHR.

4.3.4 Cálculo del espacio integrado entre los módulos Facial y Mandibular

Subsecuentemente se investigó el espacio de forma integrado (*Integrated Shape Space*) siguiendo una ruta de análisis del trabajo en el cual se conformaron los módulos, facial (B1=landmarks 1,2,4,5,13,18,19,20,23,24,25, y 26 de la configuración de Cabeza) y módulo mandibular (B2 = 1,2,12,13,14,17,18,19,20 y 21 de la configuración de Cabeza) (de Azevedo et al., 2014) para llevar a cabo una función de análisis de PLS (2B PLS) en el ambiente *RStudio* derivada del trabajo de *Fabio A. Machado* y colaboradores (Sydney et al., 2012), la cual permite calcular los factores comunes (*common factors*) y los factores locales (*local factors*) entre los

dos módulos siguiendo la propuesta metodológica del trabajo de *Philipp Mitteroecker* y *Fred Bookstein* (Mitteroecker and Bookstein, 2008). Las diferencias observadas en el espacio de forma integrado definido por los factores comunes reflejan los atributos que emergen de la integración entre el módulo facial y el módulo mandibular. Como se puede observar en la tabla 19, el análisis de 2B-PLS proporciona la covarianza (Covar) en unidades de la distancia de Procrustes al cuadrado $\times 1000$, la correlación entre las puntuaciones PLS de los dos bloques (Corr), el porcentaje de la varianza morfológica explicada por los factores comunes o los vectores de carga PLS escalados (Exp. Var.), y el porcentaje de la covarianza intra-modular explicada por los factores comunes (Ex Covar).

Tabla 19: Los primeros trece factores comunes significativos (p) extraídos de las dimensiones del análisis PLS.

	Covar.	Cor.	Ex.Var.	Ex.Covar.	p
1	2.86E-04	0.987	16.14	19.13	0.001
2	1.90E-04	0.955	10.95	12.7	0.001
3	1.50E-04	0.952	8.67	10.04	0.001
4	1.49E-04	0.948	8.62	9.98	0.001
5	1.06E-04	0.903	6.36	7.11	0.001
6	9.27E-05	0.869	5.63	6.21	0.001
7	7.63E-05	0.917	4.53	5.11	0.001
8	7.19E-05	0.791	5.04	4.82	0.001
9	5.26E-05	0.783	3.48	3.53	0.001
10	4.26E-05	0.771	2.9	2.85	0.014
11	3.94E-05	0.75	2.86	2.64	0.003
12	3.47E-05	0.848	2.13	2.32	0.003
13	2.94E-05	0.827	1.82	1.97	0.014

4.3.5 Análisis de mínimos cuadrados parciales por genotipos

Para explorar el efecto de cada uno de los genotipos de los polimorfismos rs6182 y rs6184 del gen GHR respecto de los patrones y magnitud de Integración Morfológica entre los módulos facial y mandibular se dividió la muestra total en subgrupos por cada uno de los tres genotipos de cada polimorfismo y se realizaron los análisis de PLS.

Tabla 20. Resultados del test de modularidad de Klingenberg, (2011) para los módulos facial y mandibular por genotipos del rs6182. Se presentan datos de los coeficientes RV multi-set, número de particiones y proporciones.

Genotipo	Coefficiente RV multi-set	p	Porcentaje total de Covarianza	Corr PLS1	p
GG	0.7099	<.0001	54.023	0.94726	<.0001
GT	0.8317	0.0020	69.022	0.94833	0.0361

Como se puede observar en la Tabla 20, para el análisis de PLS de los módulos facial y mandibular por los subgrupos de los genotipos homocigoto G/G y heterocigoto G/T, el análisis de PLS arrojó que los coeficientes RV *multi-set* para los dos genotipos es alto, no obstante, el heterocigoto G/T arrojó un coeficiente RV mayor junto con una correlación entre el espacio geométrico del módulo facial y mandibular en el análisis de PLS es alta (0.94833) y estadísticamente significativa (P=0.0361).

Tabla 21. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo G/G del polimorfismo rs6182

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.000906	<.0001	54.023	0.94726	<.0001
PLS2	0.000533	<.0001	18.664	0.89204	<.0001
PLS3	0.000382	<.0001	9.603	0.88907	<.0001
PLS4	0.00034	<.0001	7.605	0.86857	<.0001
PLS5	0.000264	<.0001	4.589	0.81945	<.0001
PLS6	0.00019	<.0001	2.386	0.67802	<.0001
PLS7	0.00017	<.0001	1.897	0.74485	<.0001
PLS8	0.000103	0.0001	0.697	0.78592	<.0001
PLS9	6.1E-05	0.1012	0.245	0.49747	0.0005
PLS10	4.8E-05	0.0741	0.151	0.57397	<.0001
PLS11	3.89E-05	0.0247	0.1	0.35911	0.0088
PLS12	2.45E-05	0.084	0.039	0.1796	0.3046

Tabla 22. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo G/T del polimorfismo rs6182

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.001051	0.0053	69.022	0.94833	0.0361
PLS2	0.000531	0.1601	17.642	0.98209	0.0091
PLS3	0.00033	0.6936	6.816	0.98668	0.0048
PLS4	0.000222	0.9773	3.092	0.87192	0.7775
PLS5	0.000183	0.697	2.091	0.9351	0.185
PLS6	0.000122	0.6846	0.936	0.98064	0.0132
PLS7	8.04E-05	0.7536	0.403	0.9011	0.4449

Respecto al cambio morfológico asociado a los genotipos del polimorfismo rs6182, en la Figura 54 se pueden observar los polígonos de cambio en la forma asociados al módulo facial (PLS1-1) y al módulo mandibular (PLS1-2) correspondientes al PLS1 del genotipo G/G. En el primer eje (PLS1-1) se observa una menor altura facial, una mayor anchura a la altura de los zigomáticos y la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una menor altura de la región bucal y facial hacia los valores positivos, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una mayor

altura facial, menor anchura a la altura de los zigomáticos y la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, una mayor altura de la región bucal y facial. En cuanto al segundo eje (PLS1-2) se observa un cierre en el ángulo de la rama mandibular, una proyección y mayor altura de la región del mentón, así como una reducción en la proyección de la región bucal hacia los valores positivos. Mientras que, hacia los valores negativos se observa una apertura en el ángulo de la rama mandibular, una menor altura de la articulación con el cuerpo mandibular, una proyección del cuerpo mandibular más baja acompañada de una reducción de la proyección del mentón y un aumento en la altura de la región bucal

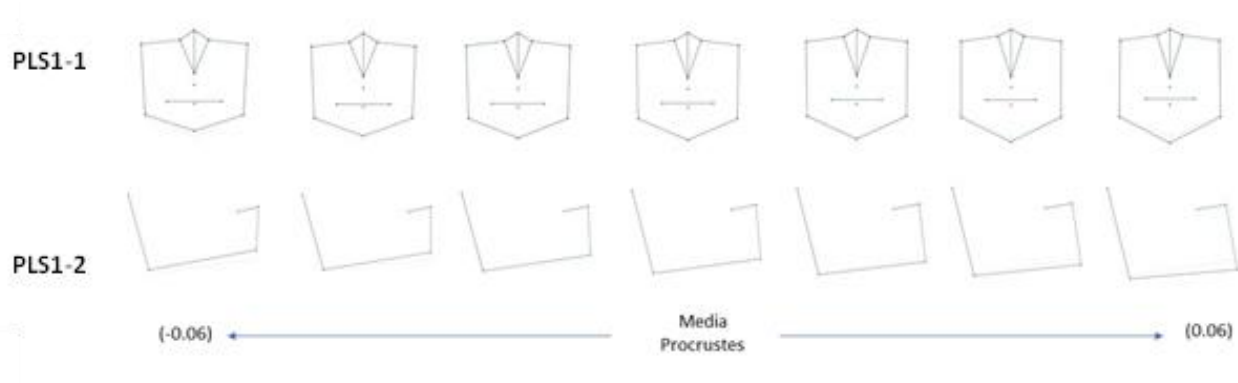


Figura 54. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/G del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

En cuanto al cambio morfológico asociado al PLS2 del módulo facial (PLS2-1) y al módulo mandibular (PLS2-2) correspondientes al genotipo G/G (Figura 55), se observa una mayor altura facial y una mayor protrusión de la región del mentón hacia los valores positivos, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una menor altura facial en la región nasal, y una retrusión de la región del mentón.

En cuanto al módulo mandibular, se observa una proyección hacia adelante en el ángulo de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, una retrusión y menor altura de la región del mentón hacia los valores positivos. Mientras que, hacia los valores negativos se observa una proyección hacia la región occipital del ángulo de la articulación entre la rama y cuerpo mandibular, y una protrusión y mayor altura de la proyección del mentón y una disminución en la altura de la región bucal.

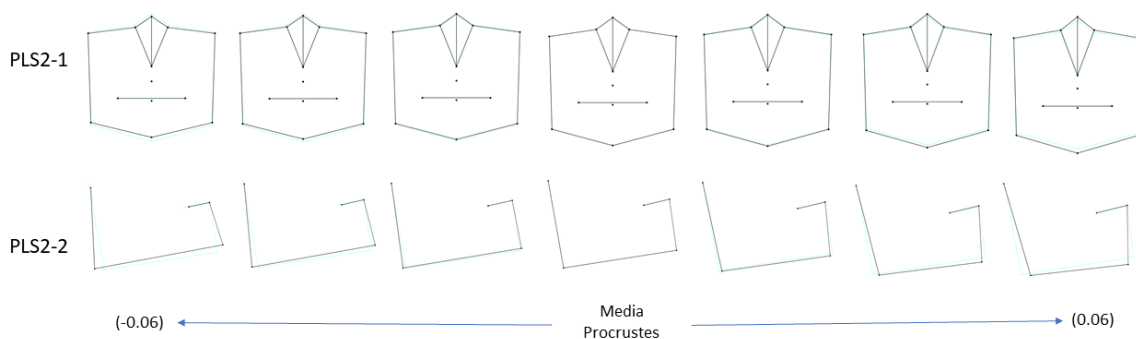


Figura 55. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/G del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Por otra parte, respecto al genotipo G/T del polimorfismo rs6182, en la Figura 56 se pueden observar los polígonos de cambio en la forma asociados al PLS1 del módulo facial (PLS1-1) y al módulo mandibular (PLS1-2). Hacia los valores positivos del primer eje se observa una mayor altura facial, una reducción de la anchura a la altura de los zigomáticos y una mayor proyección de la región del mentón al igual que una mayor altura de la región bucal, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una menor altura facial, mayor anchura a la altura de los zigomáticos, una menor altura de la región bucal y una menor proyección de la región del mentón.

En cuanto al segundo eje se observa un cierre en el ángulo de la rama mandibular, una proyección hacia abajo de la articulación con el cuerpo mandibular que se proyecta hacia la región del mentón, así como una reducción en la proyección de la región bucal hacia los valores positivos. Naturalmente hacia los valores negativos se observa una apertura en el ángulo de la rama mandibular, una menor altura de la articulación con el cuerpo mandibular, una reducción en la altura de la proyección del mentón acompañada de una proyección de la región bucal que presenta además una menor altura.

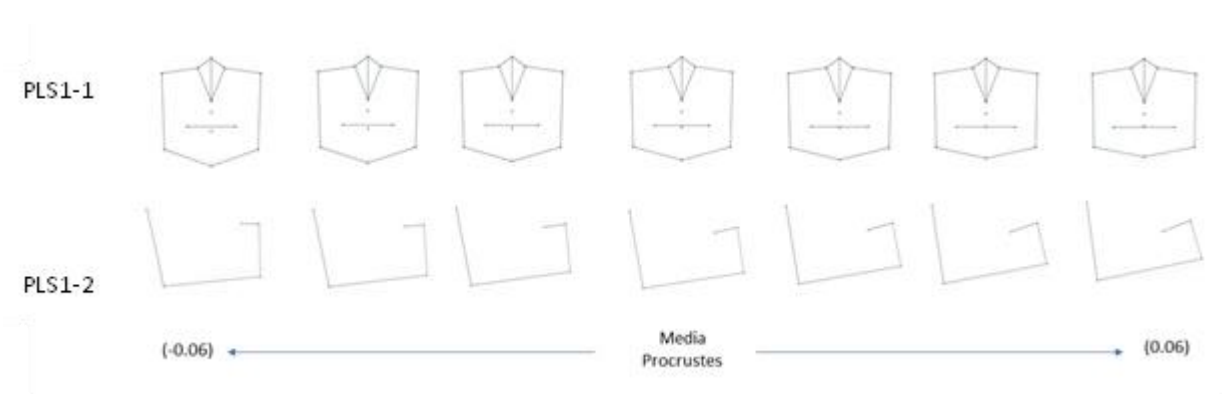


Figura 56. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/T del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Respecto al cambio morfológico asociado a los genotipos del polimorfismo rs6182, en la Figura 57 se pueden observar los polígonos de cambio en la forma asociados al PLS1 del módulo facial (PLS2-1) y al módulo mandibular (PLS2-2) correspondientes al genotipo G/T. En el primer eje se observa una menor altura facial en la región nasal, una menor anchura facial a la altura de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una menor altura de la región bucal y una menor

altura de la región del mentón hacia los valores positivos, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una mayor altura facial en la región nasal, mayor anchura a la altura de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, una mayor proyección de la región del mentón. En cuanto al módulo mandibular, se observa un cierre en el ángulo de la rama mandibular y un descenso en la articulación con el cuerpo mandibular, una proyección y mayor altura de la región del mentón, así como una reducción en la proyección de la región bucal hacia los valores positivos. Mientras que, hacia los valores negativos se observa una proyección hacia la región occipital de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, una mayor altura de la articulación con el cuerpo mandibular, una protrusión de la región del mentón y una disminución en la altura de la región bucal.

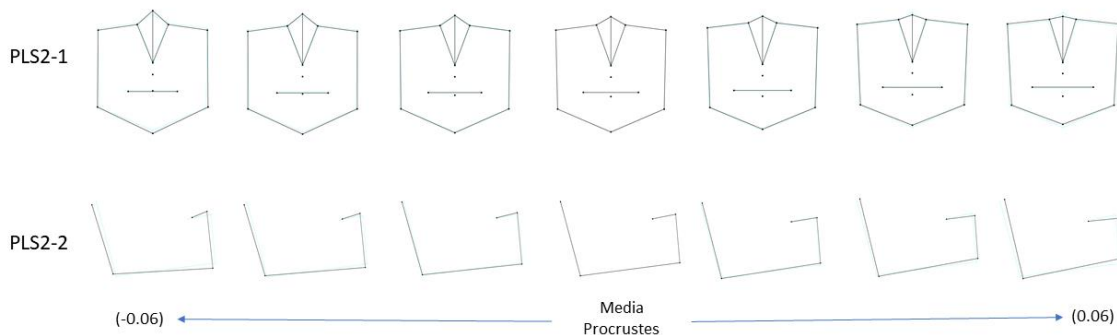


Figura 57. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo G/T del polimorfismo rs6182. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

En cuanto a la influencia los genotipos del polimorfismo rs6184 del gen GHR respecto de los patrones y magnitud de Integración Morfológica entre los módulos facial y mandibular se subdividido la muestra total en subgrupos por cada uno de los tres genotipos de cada polimorfismo y se realizaron los análisis de PLS entre los

módulos. Como se puede observar en la Tabla 23, para el análisis de PLS de los módulos facial y mandibular por los subgrupos de los genotipos homocigoto A/C y heterocigoto C/C, el análisis de PLS arrojó que el genotipo C/C presenta un coeficiente RV alto (0.7046) que es estadísticamente significativo junto con una correlación entre el espacio geométrico del módulo facial y mandibular en el análisis de PLS que también es alta (0.94305) y estadísticamente significativa ($P < .0001$).

Tabla 23. Resultados del test de modularidad de Klingenberg, (2011) para los módulos facial y mandibular por genotipos del rs6184. Se presentan datos de los coeficientes RV multi-set, numero de particiones y proporciones.

Hipótesis	Coefficiente RV multi-set	p	Porcentaje total de Covarianza	Corr PLS1	p
AC	0.6985	0.0016	55.259	0.92061	0.0683
CC	0.7046	<.0001	53.105	0.94305	<.0001

Tabla 24. Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo A/C del polimorfismo rs6184

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.000822	0.0169	55.259	0.92061	0.0683
PLS2	0.000522	0.0684	22.264	0.95682	0.0048
PLS3	0.000428	0.0168	14.976	0.84253	0.1973
PLS4	0.000214	0.8576	3.745	0.77034	0.5037
PLS5	0.000132	0.9943	1.43	0.87222	0.0858
PLS6	0.00011	0.9443	0.984	0.79947	0.3996
PLS7	9.37E-05	0.6448	0.718	0.52144	0.9907
PLS8	7.59E-05	0.2558	0.471	0.84559	0.0921
PLS9	3.92E-05	0.6348	0.125	0.77715	0.235
PLS10	1.88E-05	0.6025	0.029	0.57893	0.6825

Tabla 25 Valores singulares y correlaciones por pares del análisis de PLS entre los módulos Facial y Mandibular por el genotipo C/C del polimorfismo rs6184

PLS	Valor Singular	Valor P	Porcentaje total de Covarianza	Correlación	Valor P
PLS1	0.000907	<.0001	53.105	0.94305	<.0001
PLS2	0.000533	<.0001	18.388	0.89192	<.0001
PLS3	0.000394	<.0001	10.026	0.88499	<.0001
PLS4	0.00036	<.0001	8.357	0.87111	<.0001
PLS5	0.000269	<.0001	4.671	0.79871	<.0001
PLS6	0.000195	<.0001	2.456	0.67968	0.0001
PLS7	0.000165	<.0001	1.749	0.73182	<.0001
PLS8	0.000107	<.0001	0.738	0.80379	<.0001
PLS9	5.65E-05	0.3323	0.206	0.72095	<.0001
PLS10	4.8E-05	0.1218	0.149	0.52007	<.0001
PLS11	3.87E-05	0.0443	0.097	0.32574	0.0417
PLS12	3.01E-05	0.0118	0.058	0.19187	0.2772

Respecto al cambio morfológico asociado a los genotipos del polimorfismo rs6184, en la Figura 58 se pueden observar los polígonos de cambio en la forma asociados al PLS1 del módulo facial (PLS1-1) y al módulo mandibular (PLS1-2) correspondientes al genotipo A/C. En el primer eje se observa una mayor altura facial, una menor anchura a la altura de los zigomáticos, una mayor anchura a la altura de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una mayor altura de la región bucal y facial, así como una mayor altura hacia abajo de la región del mentón hacia los valores positivos, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una menor altura facial, mayor anchura a la altura de los zigomáticos y menor anchura a la altura de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, una menor altura de la región bucal y una menor altura de la proyección en la región del mentón.

En cuanto al segundo eje se observa una proyección de la articulación de la rama y cuerpo mandibular y una mayor proyección hacia abajo de la región del mentón, acompañada de una retrusión del mentón, así como una mayor altura de la región bucal hacia los valores positivos. Mientras que, hacia los valores negativos se observa una menor altura de la articulación con el cuerpo mandibular, una mayor altura de la proyección del cuerpo mandibular, una protrusión del mentón acompañada de una reducción de la altura de la región bucal.

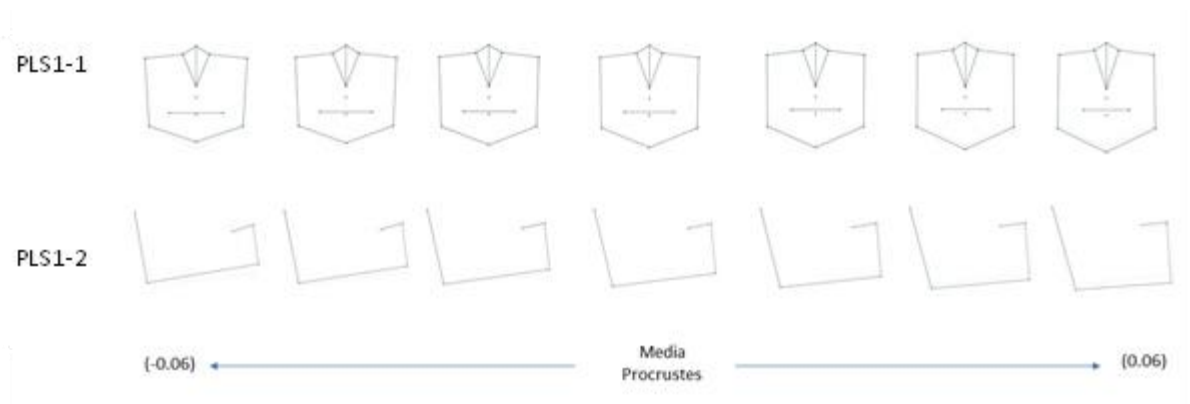


Figura 58. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1-1) y mandibular (PLS1-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo A/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Por otra parte, en cuanto al PLS2 (Figura 59) se observa un leve aumento en la altura facial en la región nasal, una menor anchura y altura facial en la región de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una menor altura de la región del mentón hacia los valores positivos, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una menor altura facial en la región nasal, una mayor anchura facial a la altura de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular y una mayor proyección de la región del mentón. En cuanto al módulo mandibular, se observa un cierre en

el ángulo de la rama mandibular y un descenso en la articulación con el cuerpo mandibular, una marcada retrusión del mentón y una mayor proyección y altura de la región bucal hacia los valores positivos. Mientras que, hacia los valores negativos se observa una elevación de la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular y una marcada protrusión de la región del mentón y una disminución en la altura de la región bucal.

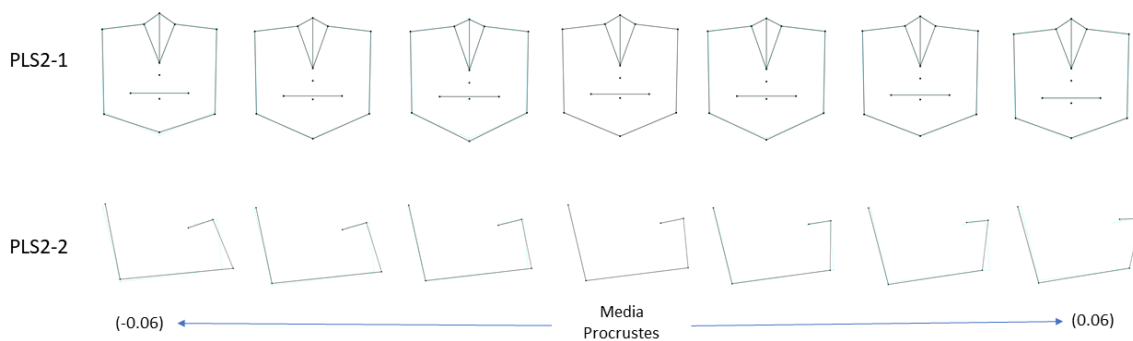


Figura 59. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo A/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

En cuanto al genotipo C/C del polimorfismo rs6184, en la Figura 60 se pueden observar los polígonos de cambio en la forma asociados al PLS1 del módulo facial (PLS1-1) y al módulo mandibular (PLS1-2). Hacia los valores positivos del primer eje se observa una menor altura facial, una mayor anchura a la altura de la articulación entre la rama y cuerpo mandibular y una menor proyección de la región del mentón al igual que una menor altura de la región bucal. Por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una menor anchura a la altura de la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una mayor proyección de la región del mentón.

Respecto al segundo eje del PLS1, se observan cambios asociados al cierre en el ángulo de la rama mandibular, una mayor altura de la articulación con el cuerpo mandibular que se proyecta hacia la región del mentón, así como protrusión del mentón y una reducción en la proyección de la región bucal hacia los valores positivos. Naturalmente hacia los valores negativos se observa una apertura en el ángulo de la rama mandibular, una reducción en la altura del cuerpo mandibular acompañada de una retrusión del mentón y una mayor altura de la región bucal.

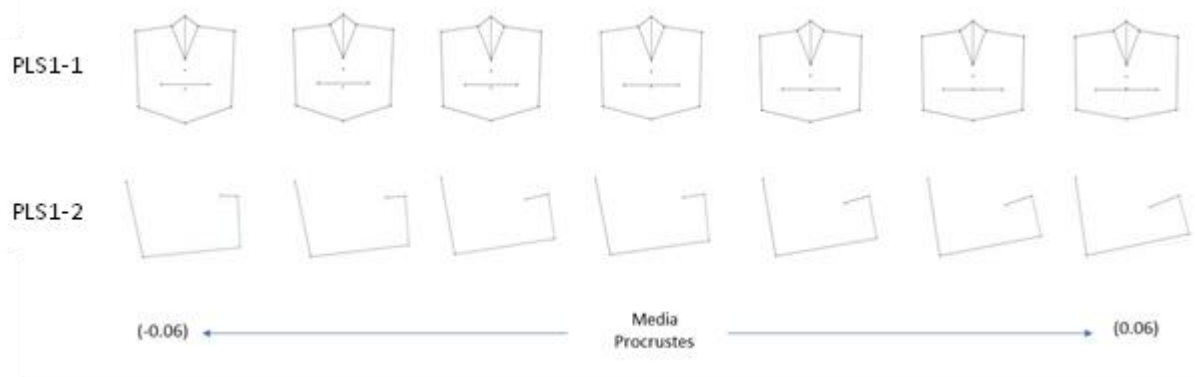


Figura 60. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS1) y mandibular (PLS2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo C/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Por otra parte, en la Figura 61 se pueden observar los polígonos de cambio en la forma asociados al PLS2 en los módulos facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) para el genotipo C/C del polimorfismo rs6184. Hacia los valores positivos del primer eje se observa una mayor altura facial, un descenso en la altura de la articulación entre la rama y cuerpo mandibular y una mayor proyección de la región del mentón. Por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una menor altura facial en la región

nasal y una menor proyección de la región del mentón. Respecto al segundo eje del PLS2, se observan una proyección hacia enfrente de la articulación de la rama con el cuerpo mandibular, así como una retrusión del mentón hacia los valores positivos. Naturalmente hacia los valores negativos se observa una proyección hacia la región occipital del ángulo de la articulación entre la rama y cuerpo mandibular, una mayor altura y protrusión del mentón.

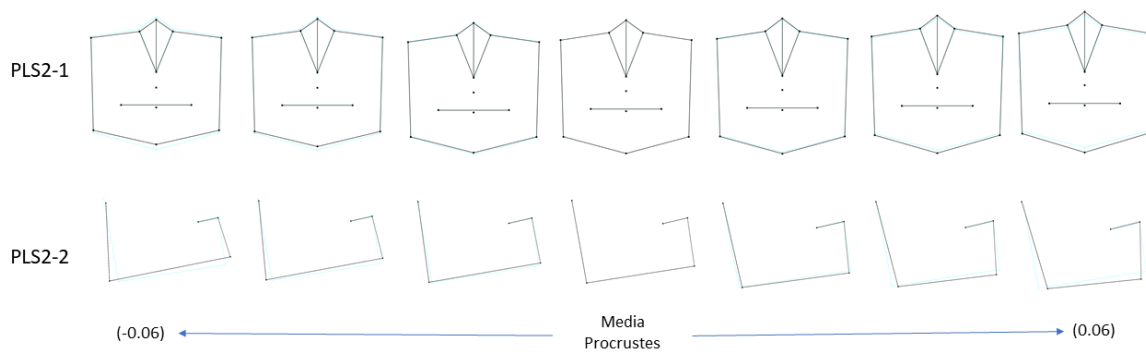


Figura 61. Variación del cambio en la forma asociada a las regiones facial (PLS2-1) y mandibular (PLS2-2) del análisis de mínimos cuadrados parciales por el genotipo C/C del polimorfismo rs6184. En azul se encuentra el wireframe asociado a la media de la forma y en color negro la variación en la forma.

Capítulo V. Discusión

En este trabajo de investigación se evaluó el efecto de cinco polimorfismos del exón 10 del gen *GHR* en la morfología y los patrones de integración morfológica y modularidad entre tres hipótesis de módulos que abarcan la región del tercio medio e inferior craneofacial en una muestra conjunta de individuos mestizos de la Ciudad de México e indígenas de Tepango de Rodríguez a través de una aproximación cuantitativa basada en morfometría geométrica y estadísticos multivariados.

Utilizar una aproximación desde la morfometría geométrica permitió capturar la morfología craneofacial general de los individuos en tres dimensiones y subsecuentemente llevar a cabo análisis para explorar la variación en la forma general al igual que por cada módulo siguiendo el Paradigma de Procrustes. Subsecuentemente se exploró la IM entre los tres módulos y basado en los resultados se exploró el efecto de los genotipos de los polimorfismos del gen *GHR* en relación al patrón y magnitud de integración morfológica entre el módulo facial y mandibular.

En contraste con los trabajos de investigación previos respecto de la asociación de polimorfismos del gen *GHR* y variación craneofacial (Tabla 2) donde se observó metodologías basadas en la captura de la forma en dos dimensiones a partir de imágenes de cefalogramas y el uso de ángulos y distancias para capturar y analizar la forma del tercio inferior craneofacial, la aproximación basada en MG permitió un análisis generalizado de la forma craneofacial global en tres dimensiones a partir de un protocolo de treinta y un landmarks. Más aun, la MG ha ganado fuerza y popularidad en las últimas décadas y conforme más investigaciones la adoptan esto

se puede reflejar en diferentes puntos importantes. El primero y el cual en cierto grado ya está en marcha es, la facilidad de comparar muestras alrededor del mundo con el fin de explorar la variación craneofacial dentro y entre poblaciones humanas. El segundo se vincula con los desarrollos tecnológicos y metodológicos que ha aumentado la capacidad de capturar variación craneofacial a niveles muy finos y subsecuentemente poderlos analizar a través de programas computacionales muy poderosos que además han sido optimizados y automatizados para análisis de MG. Por otra parte, conforme más grupos de investigación adopten esta aproximación esto facilitará las comparaciones entre muestras y resultados de las diferentes poblaciones estudiadas y abrirá la posibilidad de explorar otro tipo de hipótesis como por ejemplo la heredabilidad y variación en los patrones de IM y modularidad entre poblaciones humanas junto con covariables importantes como dieta, ancestría, sexo y polimorfismos de genes asociados a diferentes componentes del conjunto de fenotipos craneofaciales.

En este sentido, la reciente adopción de la morfometría geométrica en el estudio de la variación craneofacial humana bajo nuevos enfoques teórico-metodológicos han catalizado investigaciones enfocadas en los componentes genético, ambiental y la influencia de factores epigenéticos y del desarrollo en el llamado mapa genotipo-fenotipo que implica la morfogénesis de fenotipos complejos como es el cráneo humano. Como se puede apreciar en el capítulo II, las investigaciones enfocadas en identificar los componentes genéticos de la morfogénesis craneofacial comenzaron con el estudio de malformaciones congénitas, síndromes y genes candidato y paulatinamente se han ido integrando nuevas herramientas para la captura de fenotipos complejos al igual que para analizar el componente genético

posiblemente asociado. En conjunto, el desarrollo de la craneometría y la genética han llegado a una intersección donde su colaboración permite contribuir al entendimiento de la extensión en la que las bases genéticas interactúan con factores ambientales y en última instancia derivan en rasgos complejos como la morfología craneofacial normal. Esta línea de investigación ha sido muy exitosa y ha identificado genes mayores vinculados a la morfogénesis y a la variación craneofacial normal (Figura 17) y representan el esfuerzo conjunto por identificar cómo, cuándo y porqué es que estos genes identificados están asociados a cambios en la morfología craneofacial y/o a diferentes niveles de magnitud. Este siguiente paso es de gran interés tanto para la genética como para la antropología biológica, la antropología forense y también las aplicaciones clínicas ya que nos permitirán contribuir a comprender las dinámicas entre las bases genéticas con las influencias ambientales durante el proceso de crecimiento y desarrollo.

Dentro de esta línea de investigación, el estudio de genes candidato con evidencias funcionales y asociaciones a fenotipos en distintas poblaciones representan una ventana de investigación bioantropología de gran interés debido a que la variación morfológica observada entre poblaciones humanas o diferencias entre las asociaciones entre polimorfismos y diferencias en el fenotipo podrían estar vinculadas a procesos microevolutivos recientes o dinámicas bioculturales de interés. Por lo tanto, el caso de la proteína producida por el gen receptor de la hormona del crecimiento (*GHR*) resultó de gran interés ya que está implicada directamente en el crecimiento vertical craneofacial y esquelético, al igual que en otras funciones biológicas como son; la regulación del metabolismo, control de proceso biológicos en el sistema hepatobiliar, cardiovascular, renal, gastrointestinal

y reproductivo a través de los efectos de la señalización celular de la activación de GHR que son responsables de esta amplia gama de funciones fisiológicas importantes. Mas aún, esta proteína tiene un papel importante en la regulación del metabolismo de los lípidos, carbohidratos y agua corporal debido a que la hormona de crecimiento, a través de este receptor, permite la producción y secreción de *IGF-1* (factores de crecimiento insulínicos) en muchos tejidos. Esto es importante ya que *IGF-1* e *IGF-2* son mediadores de la actividad de la hormona del crecimiento y en conjunto, estimulan el crecimiento lineal, aunque sus dinámicas de influencia del crecimiento son complejas y no necesariamente son dependientes una de la otra para la estimulación del crecimiento.

En este sentido, se hizo una revisión de los estudios que han investigado la asociación entre cinco polimorfismos dentro del exón 10 del gen *GHR* con variación en la morfología de la mandíbula en diferentes poblaciones del mundo (Tabla 1). Se encontró que la única asociación entre genotipos de los polimorfismos fue con la altura de la rama mandibular y, además, cuando se comparan las asociaciones entre la altura de la rama mandibular y los diferentes genotipos de los polimorfismos del gen *GHR* entre las diferentes poblaciones estudiadas se observa que el polimorfismo asociado no es sistemáticamente replicado. En población japonesa se identificó inicialmente el polimorfismo rs6184 y estudios subsecuentes en una muestra japonesa más grande y en población coreana se asociaron los polimorfismos rs6182 y rs6184, los cuales se observó están en completo desequilibrio de ligamiento. Por otra parte, en población Han de China se asoció el polimorfismo rs6180 y en población chilena se asociaron los polimorfismos rs6182

y rs6184, por último, en población egipcia no se encontró asociación alguna (Tabla 2).

Para investigar este escenario, primero se compararon las frecuencias alélicas de los cinco polimorfismos del gen *GHR* contra las frecuencias de las poblaciones de estudios previos en conjunto con poblaciones del continente americano presentes en la base de datos de 1000 genomas (Tabla 7) y se puede observar que para el polimorfismo rs6176, las frecuencias difieren significativamente únicamente entre la muestra y los japoneses y los colombianos de Medellín, mientras que para los polimorfismos rs6180 y rs6183, la diferencia es significativa entre la muestra y todas las poblaciones. Por otra parte, las diferencias entre las frecuencias del polimorfismo rs6184 no difieren significativamente entre la muestra y las poblaciones japonesa y coreana pero sí respecto de las poblaciones de 1000 genomas. Por último, es de particular interés que las comparaciones de frecuencias entre la muestra y la población de mexicanos de Los Ángeles haya resultado en diferencias significativas para los polimorfismos rs6180, rs6183 y rs6184. El hecho de que la muestra de esta investigación se conforma en su mayoría por individuos Totonacos de la Localidad de Tepango de Rodríguez, Puebla en conjunto con mestizos de la Ciudad de México podría ser uno de los factores que explique las diferencias observadas. Esto debido a que las diferencias observadas pueden ser producto de las diferentes historias poblacionales que se suscitaron desde el proceso de Conquista y la Colonia en México que impactaron de manera importante en la demografía de las poblaciones indígenas al igual que en los subsecuentes patrones de mestizaje basados en el sistema de castas, además de que estos procesos se dieron de manera diferencial a lo largo del continente americano en los últimos quinientos años. Dichos procesos

habrían impactado de manera diferencial procesos de aislamiento genético, mestizaje reciente y deriva genética que estarían directamente vinculados con las frecuencias alélicas observadas y sus diferencias entre poblaciones del continente americano.

Subsecuentemente se calcularon los estadísticos D' y R^2 por pares de polimorfismos con el fin de investigar el desequilibrio de ligamiento entre los cinco polimorfismos en la muestra ya que se encuentran dentro del exón 10 del gen GHR. Como se observa en la tabla 9 los valores de desequilibrio de ligamiento más altos corresponden a los polimorfismos rs6180-rs6184 que presentan una D' de 1 y una R^2 de 0.032, mientras que los polimorfismos rs6182-rs6180 presentan valores de D' de 1 y R^2 de 0.26, los valores más altos corresponden a los polimorfismos rs6182-rs6184 que presentaron una D' de 1 y una R^2 de 0.819. Por otra parte, para las combinaciones rs6183-rs6180, rs6182-rs6183 y rs6183-rs6184 tanto la D' como la R^2 indican que estos polimorfismos se heredan de manera independiente.

En contraste con las investigaciones previas, encontramos que en la población Han de China el desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs6180-rs6184, rs6182-rs6180 rs6182-rs6184 arrojó una D' de 1 para cada comparación, es decir están en completo ligamiento. Por otra parte, el análisis de ligamiento por pares de polimorfismos en población japonesa entre los polimorfismos rs6182, rs6176, rs6183, rs6180, rs6184 identificó que los cinco polimorfismos se encuentran en un bloque de ligamiento ($D'=1$ para todas las comparaciones) y resalta que el R^2 entre los polimorfismos rs6182 y rs6184 fue de 1, lo que indica que está en completo ligamiento en la muestra japonesa. Respecto a la población coreana, el análisis de desequilibrio de ligamiento replicó el bloque de ligamiento entre los cinco

polimorfismos al igual que el completo ligamiento entre los polimorfismos rs6182 y rs6184 ($R^2=1$ y $D'=1$). Por último, el estudio con población colombiana explorando únicamente los polimorfismos rs6184 y rs6180 obtuvo valores de D' y $R^2 = 1$ lo que indica que se encuentran en completo ligamiento.

El hecho de que en las poblaciones del sureste asiático y la muestra presenten sistemáticamente un fuerte ligamiento entre los polimorfismos rs6182 y rs6184 podría en principio explicar porque en los estudios donde se exploraron más variantes del exón 10 del gen *GHR* la asociación a diferencias en la altura de la rama mandibular se estableció para las dos variantes, o por otro lado, podría indicar un patrón de efecto relevante basado en haplotipos entre las dos variantes que de manera conjunta están contribuyendo a la variación morfológica observada en la altura de la rama mandibular.

Retomando el análisis de MG, en esta investigación se analizó la variación en la forma craneofacial global y en tres hipótesis de módulos (módulo facial, neurocraneal y mandibular) derivados de 31 landmarks (Tablas 4 y 5) en conjunto con los genotipos de cinco polimorfismos del gen *GHR*, rs6176, rs6180, rs6182, rs6183 y rs6184. Partiendo de la evidencia previa de asociación entre genotipos de los polimorfismos rs6180, rs6182 y rs6184 a diferencias en la altura de la rama mandibular se exploró la variación morfológica en la forma global y en las tres hipótesis de módulos.

En primer lugar, respecto a la variación craneofacial global, se identificó que los individuos portadores del genotipo C/T del polimorfismo rs6182 muestran una tendencia hacia los valores positivos de la PC2 que se asocian a menor protrusión del mentón mandibular, mayor proyección y altura media facial (Figura 34). Más

aún, al observar el gráfico de dispersión correspondiente al cambio morfológico facial (Figura 40) se observa que los individuos portadores del genotipo C/T del polimorfismo rs6182 y los individuos portadores del genotipo A/C del polimorfismo rs6184 muestran una tendencia hacia los valores positivos de la PC1 que se asocian a una mayor altura facial en la región nasal al igual que una menor anchura y una protrusión de la región del mentón y un mayor ángulo del cuerpo mandibular hacia la región poscraneal y un ángulo de la rama mandibular hacia la región anterior. Por último, al observar el cambio morfológico asociado al módulo mandibular se observó que los individuos portadores del genotipo C/T del polimorfismo rs6182 y del genotipo A/C del polimorfismo rs6184 muestran una tendencia a agruparse entre los valores -0.03 y 0.02 de las dos componentes(PC1 y PC2), que se asocian, en la primera componente principal a menor apertura o cierre del ángulo de la rama mandibular y a retrusión y protrusión del mentón en la región inferior facial, mientras que el cambio morfológico asociado a la PC2 está asociado a la retrusión y protrusión mandibular y al aumento en la altura de la región inferior facial (Figura 43).

Retomando los trabajos previos de asociación del gen *GHR*, en población japonesa, los individuos heterocigotos para el polimorfismo rs6184 presentaron menor longitud de la rama mandibular y altura facial. Subsecuentemente, en una muestra japonesa más grande y otra investigación en población coreana se estableció que los portadores de los genotipos homocigotos C/C del polimorfismo rs6184 y GG del polimorfismo rs6182 se asociaron a una rama mandibular más larga respecto a los otros genotipos. Al contrastar los resultados previos y tomando en cuenta la diferencia de aproximaciones metodológicas para analizar la variación en el tercio

medio e inferior craneofacial resalta el hecho de que las elipses de confianza para los genotipos heterocigotos C/T del polimorfismo rs6182 y el genotipo A/C del polimorfismo rs6184 estén asociados, en los gráficos de las PC1 y PC2 de los análisis de componentes principales para el módulo craneofacial general, facial y mandibular, a cambios morfológicos en la proyección del mentón, la altura y anchura facial al igual que al ángulo de la rama y cuerpo mandibular.

Respecto al polimorfismo rs6180 el cual se asoció el genotipo homocigoto C/C a mayor altura de la rama mandibular en población Han de China, en la Figura 43 se observa que algunos de los individuos heterocigotos A/C se dispersan hacia los valores positivos más altos del primer eje (PC1) que está asociado a una mayor protrusión del mentón mandibular que además presenta mayor altura en el tercio medio inferior y un ángulo de la rama mandibular más cerrado hacia la región facial. Derivado de los resultados del análisis de la morfología craneofacial global y en las tres hipótesis de módulos, se siguieron los postulados de que los organismos, como sistemas biológicos complejos tienden a tener una organización modular desde sus unidades moleculares hasta sus interacciones ecológicas que se despliega en los fenotipos complejos a través de la denominada Integración Morfológica que puede estar mediada por factores genéticos, funcionales, del desarrollo o evolutivos.

Subsecuentemente se evaluaron las tres hipótesis de módulos mediante la comparación de la fuerza de la covariación entre los módulos utilizando el método de mínimos cuadrados parciales (PLS) para evaluar los patrones de covariación entre los conjuntos de landmarks (módulos). Como ya se mencionó el análisis de PLS de dos bloques se basa en el método de descomposición de valor único (SVD) de la matriz de covarianza entre los dos conjuntos de variables para encontrar pares

correlacionados de combinaciones lineales (vectores singulares) entre dos conjuntos (o bloques) de variables, que den cuenta de la mayor covariación posible entre los dos bloques de variables originales para maximizar la representación en pocas dimensiones de la estructura de covarianza entre los conjuntos de landmarks.

Al llevar a cabo las tres comparaciones entre hipótesis de módulos anatómicos el análisis de PLS arrojó los coeficientes *RV multi-set* y el porcentaje total de covarianza para las comparaciones entre los módulos facial-neurocraneal, neurocraneal-mandibular y facial-mandibular (Tabla 14). Los resultados indican que la covariación entre los módulos facial y neurocraneal y neurocraneal y mandibular es baja ($RV=0.1841$ y $RV=0.2754$ respectivamente), mientras que la covariación entre el módulo facial y mandibular es alta ($RV=0.6798$) al igual que la correlación entre el espacio geométrico entre los módulos ($RV=0.92578$) y además es estadísticamente significativa ($P<.0001$). Esto nos indica que los módulos facial y mandibular covarían entre ellos y por lo tanto están en IM. Este resultado concuerda con investigaciones previas que señalan que la parte maxilar y mandibular se encuentran en fuerte integración debido a IM del desarrollo y funcional (You et al., 2001; Marshall et al., 2011). Más aún, *Lieberman* señala que los componentes del cráneo evolucionan y se desarrollan de manera conjunta y además con funciones que están coordinadas por lo que los patrones de IM en las distintas partes del cráneo son una manera de promover y mantener la evolucionabilidad de la estructura sin afectar de manera seria las funciones de los componentes que se agrupan dentro de este conjunto de fenotipos complejos (Lieberman, 2011) Teniendo en cuenta que las trayectorias de crecimiento y desarrollo difieren entre el módulo

neurocraneal respecto de los módulos facial y mandibular, el resultado de IM entre los últimos dos estaría guiado por su proceso de crecimiento y desarrollo, el cual continua durante un mayor tiempo respecto del neurocráneo (Figura 9).

Tomando como referencia la reciente adopción de la morfometría geométrica en el estudio de la variación craneofacial humana y su integración con enfoques teórico-metodológicos que han catalizado investigaciones enfocadas a los componentes genético, ambiental y la influencia de factores epigenéticos y del desarrollo en el llamado mapa genotipo-fenotipo que implica la morfogénesis de fenotipos complejos como es el cráneo humano, se llevaron a cabo análisis para evaluar el efecto de los genotipos de los cuatro polimorfismos del gen *GHR* en los patrones de integración morfológica y modularidad entre tres hipótesis de módulos en el cráneo. Siguiendo los resultados observados en el análisis de mínimos cuadrados parciales de los módulos Facial (PLS1) y Mandibular (PLS2) acompañados de las elipses de frecuencia equitativa para los cuatro genotipos del gen *GHR* (Figura 53) se observó que los heterocigotos G/T del polimorfismo rs6182 y los heterocigotos A/C del polimorfismo rs6184 se agrupan en los valores negativos con una tendencia hacia los primeros valores positivos en los dos ejes, lo cual se asocia a la retrusión o protrusión del mentón, anchura en la región de la rama mandibular y los zigomáticos y a aumento o disminución en altura facial en la región nasal en el eje del PLS1-1, mientras que en el eje del PLS1-2 se asocia a cambios en el ángulo de la rama mandibular, altura de la región del mentón y altura de la región bucal.

Basado en estas observaciones se replicaron los análisis de PLS dividiendo a la muestra por los genotipos de los polimorfismos rs6182 y rs6184 para explorar el efecto de los genotipos en la magnitud e intensidad de IM entre los módulos

mandibular facial y mandibular y encontramos que el genotipo G/T del polimorfismo rs6182 presenta un coeficiente RV mayor respecto del polimorfismo rs6184, aunque el coeficiente de correlación para los dos polimorfismos es similar y estadísticamente significativo para el genotipo G/G. En términos del cambio morfológico asociado al módulo facial se observó una menor altura facial, una mayor anchura a la altura de los zigomáticos y la articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una menor altura de la región bucal y facial hacia los valores positivos, por otra parte, hacia los valores negativos se aprecia una mayor altura facial, menor anchura a la altura de los zigomáticos y la articulación entre la rama y el cuerpo mandibular, una mayor altura de la región bucal y facial. En cuanto al módulo mandibular se observó un cierre en el ángulo de la rama mandibular, una proyección y mayor altura de la región del mentón, así como una reducción en la proyección de la región bucal hacia los valores positivos. Mientras que, hacia los valores negativos se observa una apertura en el ángulo de la rama mandibular, una menor altura de la articulación con el cuerpo mandibular, una proyección del cuerpo mandibular más baja acompañada de una reducción de la proyección del mentón y un aumento en la altura de la región bucal.

Por otra parte, respecto al polimorfismo rs6184 observamos que el genotipo C/C presenta un coeficiente RV mayor ($RV=0.7046$), al igual que un coeficiente de correlación más alto (0.94305) y estadísticamente significativo ($<.0001$) respecto del genotipo A/C (Tabla 22). Y está asociado a una menor altura facial, una mayor anchura a la altura de la articulación entre la rama y cuerpo mandibular y una menor proyección de la región del mentón al igual que una menor altura de la región bucal y hacia los valores negativos se aprecia una menor anchura a la altura de la

articulación entre el cuerpo y rama mandibular y una mayor proyección de la región del mentón. En cuanto a la morfología mandibular, se observaron cambios asociados al cierre en el ángulo de la rama mandibular, una mayor altura de la articulación con el cuerpo mandibular que se proyecta hacia la región del mentón, así como protrusión del mentón y una reducción en la proyección de la región bucal hacia los valores positivos y hacia los valores negativos se observó una apertura en el ángulo de la rama mandibular, una reducción en la altura del cuerpo mandibular acompañada de una retrusión del mentón y una mayor altura de la región bucal.

El resultado de los análisis de PLS por los polimorfismos rs6182 y rs6184 del gen *GHR* indican un ligero efecto en la retrusión en el mentón mandibular es importante ya que el mentón ha sido reconocido como un rasgo derivado en nuestra especie *Homo sapiens*, desde 1775 cuando *Blumenbach* identificó al mentón como uno de los rasgos fundamentales que consideró como exclusivamente humano respecto de otros homínidos como el *Homo neanderthalensis* además de los grandes simios (Schwartz, 2016). La descripción anatómica del mentón se ha enfocado principalmente en la protrusión de la región de la sínfisis (Leiberman, 1995) que tiene su origen en el desarrollo posnatal mediante una reabsorción ósea cerca del margen alveolar, con depósito concomitante de hueso más abajo, por lo que se hipotetiza que la variación en el desarrollo del mentón resulta de tasas diferenciales de reabsorción versus depósito óseo (Enlow and Moyers, 1982).

Nuestros resultados se asemejan a los obtenidos por *Hünemeier* y colaboradores en el cual abordaron mutaciones en el gen *FGFR1* y su asociación con el índice cefálico y los patrones y magnitud de IM representan una aproximación que conjunta genética con morfometría geométrica a través de una perspectiva de evolución y

desarrollo. En dicho trabajo no se identificaron diferencias en la forma por genotipos o por relaciones población-genotipo, pero si se identificaron diferencias significativas en el patrón y magnitud de IM entre genotipos. Lo cual se identificó también en esta investigación para polimorfismos del gen *GHR*. Es interesante que los genes estudiados tengan un efecto en los patrones e intensidad de IM entre módulos faciales y los resultados evidencian las dificultades para identificar mutaciones con efectos grandes detectables durante el desarrollo o, por otra parte, evidencia la complejidad de las rutas de expresión genética durante los diferentes tiempos ontogenéticos que pueden ir obscureciendo señales previas o por dinámicas de epistásis.

Siguiendo la revisión hecha en el trabajo de *Schwartz y Tattersall (2000)* diferentes antropólogos han propuesto hipótesis de la evolución del mentón en sapiens. Por ejemplo, *Hrdlicka (1911)* sugirió que la estructura evolucionó como resultado de la reducción del arco dental lo que implica que la protrusión quedara atrás cuando el margen anterior se redujo. Subsecuentemente *Robinson (1913)* propuso que fueron las demandas musculares de la lengua y la laringe las que dieron pie al mentón, mientras que *Gregory (1992)* postuló la posibilidad que el mentón provee espacio en el frente de la mandíbula que es necesario para acomodar las coronas y raíces de los incisivos y los caninos. Howells en 1959 suscribió a la propuesta de *Robinson* y sugirió que el incremento en grosor de los huesos debió haber evolucionado para reforzar la parte frontal de la mandíbula contra el estrés masticatorio. *Wolpoff (1980)* postuló que el mentón estaba correlacionado con la expansión del neurocráneo y un cambio concomitante de los músculos temporales a una angulación más medial. Por último, *Daegling (1993)* revisó interpretaciones funcionales que explican la

presencia del mentón y lo atribuyó a que el mentón representa una respuesta estructural para resistir la flexión vertical del plano coronal (Schwartz and Tattersall, 2000). Como se puede apreciar, la mayoría de las hipótesis del origen del mentón se basan en un origen evolutivo y se enfatizan con trabajos que señalan que algunos Neandertales presentan mentones incipientes. No obstante, en la discusión del trabajo "*The human chin revisited: what is it and who has it?*" Schwartz and Tattersall enfatizan que la configuración derivada de la región de la sínfisis de *Homo sapiens* podría estar vinculada a cambios regulatorios en la absorción y depósito de hueso y por lo tanto en la forma en esta región. Por otra parte, los autores concluyen su investigación resaltando que la configuración de la región de la sínfisis mandibular en *Homo sapiens* se forma temprano en el desarrollo fetal y la forma básica y la arquitectura se conservan hasta la edad adulta y ningún neandertal estudiado presenta estas características distintivas (Schwartz and Tattersall, 2000). Sumando a estos resultados, encontramos otra hipótesis que señala que el mentón prominente es resultado de patrones de prognatismo diferenciado en la parte superior e inferior facial durante la evolución humana y por lo tanto el papel de un mentón prominente simplemente es una consecuencia de patrones de crecimiento diferenciados en el tercio medio e inferior craneofacial asociados a la forma de la sínfisis mandibular (Gröning et al., 2011). Este resultado se vincula con hipótesis que sugieren que el desarrollo evolutivo del mentón está vinculado a una reducción en la proyección facial en *Homo sapiens*, específicamente a una reducción en el crecimiento maxilar anterior relativo a la mandíbula que pudo haber ocurrido por factores no mecánicos. La reducción en tamaño y proyección del esqueleto facial son considerados aspectos claves de la evolución de la anatomía humana moderna

y por lo tanto, el mentón puede formar parte de un conjunto de fenotipos que están ligados a la reducción del tamaño en *Homo sapiens* (Marshall *et al.*, 2011).

Por otra parte, como se mencionó en el capítulo I otra hipótesis respecto de la influencia en la variación de la mandíbula entre poblaciones humanas corresponde al estrés masticatorio asociado a diferencias de dieta y comportamientos no alimenticios que ejercen tensiones y deformaciones mecánicas, haciendo un especial énfasis en la interacción entre las cargas masticatorias y la morfología de la sínfisis mandibular (Holton *et al.*, 2015). Dichos estudios han planteado que la presencia de un mentón prominente en la sínfisis mandibular de *Homo sapiens* se asocia a una adaptación para reforzar el cuerpo anterior de las tensiones de flexión durante la masticación (Gröning *et al.*, 2011) y esto indicaría que un mentón prominente está vinculado a una adaptación funcional para resistir el estrés vertical durante la masticación. No obstante existe evidencia contradictoria en estudios que han evaluado la presencia y ausencia de un mentón prominente respecto de la resistencia al estrés vertical durante la masticación. Al investigar esta relación se encontró que el desarrollo de la proyección del mentón es probablemente independiente de las necesidades de resistir el estrés masticatorio mientras que la reducción de la resistencia vertical durante el crecimiento y desarrollo se debe, en parte, a cambios ontogenéticos en la orientación de la sínfisis mandibular que se piensa tiene una influencia significativa en la habilidad de resistir el estrés durante la masticación (Holton *et al.*, 2015).

Siguiendo la perspectiva de crecimiento y desarrollo, en humanos la mandíbula presenta mucho más hueso cortical a lo largo de su cuerpo y la sínfisis comparado con las mandíbulas de otros grandes simios (Daegling, 2007) lo cual indica que la

variación en la prominencia del mentón está asociada a dinámicas del crecimiento craneofacial que afectan las relaciones espaciales entre la mandíbula y los tejidos blandos y óseos craneofaciales durante distintas etapas del crecimiento prenatal y posnatal. Por ejemplo, durante el desarrollo posnatal la posición de la región del mentón está influenciada por los músculos de la lengua y el suprahioides mientras que constreñimientos espaciales en la región de la faringe afectan la posición relativa del esqueleto facial (Coquerelle et al., 2013). En subsecuentes etapas posnatales, el grado de prominencia del mentón se asocia a patrones diferenciados de rotación mandibular que correlacionan con la postura mandibular, el desarrollo dentoalveolar y la dirección del crecimiento del cartílago condilar (Buschang and Gandini, 2002; Buschang et al., 2013). Adicionalmente, la variación en la prominencia del mentón también se ha asociado a diferencias en las dimensiones antero-posterior del complejo dentoalveolar y con menores bordes de la mandíbula a lo largo de la ontogenia (Marshall et al. 2011) y entre amplios rangos de variación poblacional (Scott et al. 2010; Scott, 2014). Por lo tanto, es claro que la variación en el grado de prominencia del mentón está influenciada por el crecimiento y constreñimientos espaciales del esqueleto facial pero no queda claro a qué grado estas dinámicas de desarrollo influyen que la prominencia del mentón incremente la resistencia de la sínfisis al estrés masticatorio. Más aún, durante la ontogenia, el borde inferior de la mandíbula exhibe crecimiento anterior mayor relativo a la maxila como resultado de los ritmos diferenciados de crecimiento entre las regiones media e inferior craneofacial que tardan más tiempo en terminar su crecimiento y desarrollo respecto de la parte neurocraneal. No obstante, la fuerte integración del desarrollo e integración funcional entre la maxila y las regiones de los alveolos mandibulares

debido al enclavamiento oclusal restringen el crecimiento anterior de los alveolos mandibulares resultando en una posición posterior relativa de la sínfisis superior durante el crecimiento (You *et al.* 2001; Marshall *et al.* 2011).

Por último, los estudios de asociación a nivel del genoma que han explorado el componente genético de los fenotipos faciales han cobrado fuerza en la última década debido a su relevancia en ámbitos de identificación humana, estimación de ancestría y análisis de hipótesis relacionadas a procesos de adaptación al ambiente y de reconocimiento individual dentro de las interacciones sociales humanas. Esto se debe a que la variación facial presenta una importante contribución genética en estudios de heredabilidad (entre 60 y 80%) (Adhikari *et al.* 2015). No obstante, el número de investigaciones es reducido y se ha enfocado principalmente a poblaciones europeas (Figura 17). En el año 2015, el Consorcio para el Análisis de la Diversidad y Evolución de Latinoamérica (CANDELA) publicó un estudio de asociación a nivel del genoma donde se asociaron variantes en los genes *EDAR*, *TBX15* y el gen *CART1* a varios fenotipos de la morfología de la oreja en una muestra compuesta por cinco poblaciones latinoamericanas (Adhikari *et al.* 2015). Subsecuentemente extendieron su análisis a otros catorce fenotipos faciales basados en una escala categórica que reflejó la variación en cada rasgo e identificaron asociaciones entre genes que previamente se han establecido como importantes en el desarrollo craneofacial, en concreto los genes *PAX3*, *EDAR*, *DCHS2*, *RUNX2*, *GLI3* y *PAX1* asociados a variación facial. De particular interés para esta investigación es el análisis de los fenotipos faciales correspondientes a la forma y protrusión del mentón donde los análisis de asociación identificaron a la variante del rs3827760 del gen *EDAR* con variación en la protrusión del mentón.

Dicha asociación fue identificada independientemente en la población del este asiático de Uyghur, que tiene un reciente mestizaje entre asiáticos y europeos. Estudios previos evidencian que varias variantes del gen *EDAR* estuvieron sujetas a fuertes presiones selectivas en el este asiático además de que se encuentran en alta frecuencia en las poblaciones asiáticas y nativas americanas (Peng *et al.* 2016). Dentro de la discusión de los trabajos se enfatiza en que la variación craneofacial asociada a las variantes del gen *EDAR* son consecuencia de la influencia de las mutaciones en la ruta de señalización de cascada de este gen, la cual se ha asociado a la morfogénesis en fenotipos ectodérmicos como son los dientes, forma y grosor del cabello, glándulas sudoríparas y frente prominente y grosor de los labios (Cluzeau *et al.* 2011). Por otra parte, se hipotetizó que debido a que el esqueleto craneofacial está mayoritariamente constituido de huesos que derivan del tejido ectodérmico sería importante poner a prueba cómo es que la variante *EDARV370A* (rs3827760) afecta la morfología facial. Los resultados indican que los individuos homocigotos portadores de la variante 370A presentan una protrusión del mentón en comparación con los individuos heterocigotos que tienden a presentar retrusión, y este resultado se replicó en una submuestra de población Han de China (Peng *et al.* 2016). Los autores enfatizan la naturaleza pleiotrópica de la variante *EDARV370A* y la posibilidad de que debido a esto estuvo bajo múltiples procesos de selección que la llevaron a presentar tan altas frecuencias en el este asiático y en América.

Retomando el hecho de que tanto *EDAR* como *GHR* son genes fuertemente vinculados a la morfogénesis mandibular durante toda su etapa de crecimiento y desarrollo resalta que en este estudio dos variantes del exón 10 (rs6182 y rs6184)

se asociaron a un efecto en los patrones e intensidad de IM entre el módulo facial y el módulo mandibular. Una pregunta que se abre es cómo es que estas dos variantes podrían estar impactando la morfogénesis de la mandíbula, tanto en su componente de la rama mandibular como en el cuerpo y la región del mentón en poblaciones indígenas y mestizas de México.

Por último, en 2021 *Betty Bonfante* y colaboradores (2021) publicaron un estudio de asociación a nivel del genoma con la cohorte de CANDELA titulado “*A GWAS in Latin Americans identifies novel face shape loci, implicating VPS13B and a Denisovan introgressed region in facial variation*” donde se exploró la variación en los tercios superior, medio e inferior facial mediante el análisis de; la proyección facial, el arco de la ceja, el plano medio facial y la proyección de la mandíbula bajo la hipótesis de la importancia de la selección natural en conjunto con la influencia del ambiente y su interacción con factores sociales para la actual variación craneofacial observada en primates y, más aún, en nuestro linaje homínido debido a que el perfil facial en humanos presenta una variación considerable entre individuos y entre poblaciones y, por lo tanto, puede ser altamente informativo temas de investigación genética, médica, antropológica y forense. El estudio de asociación evaluó 59 medidas cuantitativas (distancias, ratios y ángulos) basados en 19 landmarks y 22 semi-landmarks que permitieron cuantificar aspectos de la morfología del tercio superior, medio e inferior facial que estableció asociaciones estadísticamente significativas entre 32 regiones en el genoma y rasgos en la morfología facial. De particular interés para esta investigación es la asociación entre la región 7q31.31 y la protrusión mandibular (*jaw protrusión*). En esta región se encuentra en gen *CPED1* (*Cadherin Like And PC-Esterase Domain Containing 1*)

cuya variante asociada (rs6950680) se encuentra en un intrón asociado a elementos regulatorios expresados en tejido craneofacial del embrión. Más aún, esta variante se ha asociado a altura total y a densidad mineral ósea y también se encuentra en la región genómica cercana al gen *WINT16*, un gen involucrado en cascadas de señalización de rutas de morfogénesis que juegan un papel crucial en el desarrollo embrionario del tercio medio facial y el paladar orofacial(Bonfante *et al.*, 2021).

Es evidente que los estudios de asociación a nivel del genoma en conjunto con nuevas aproximaciones de captura y cuantificación de fenotipos craneofaciales han ampliado el alcance y acelerado el avance de investigación y entendimiento de la base genética de la variación craneofacial humana. En este sentido, es claro que el entendimiento del papel que los diferentes genes tienen en el desarrollo de estructuras faciales específicas es de suma importancia y esta investigación evidencia que la mayoría de las 32 asociaciones a regiones genómicas están relacionadas a diferencias entre los potenciadores (*enhancers*) que regulan genes clave dentro de las rutas de cascadas de señalización de la morfogénesis craneofacial(Prescott *et al.*, 2015).

Por otra parte, el resultado de la diferencia de frecuencia alélica entre los grupos continentales para la variante del gen *EDAR* asociada a rostros más planos y protrusión mandibular enfatiza la influencia de la historia demográfica y la subsecuente estructura poblacional en la búsqueda de asociaciones respecto de la variación craneofacial dentro y entre poblaciones humanas(Bonfante *et al.*, 2021). Los autores enfatizan que la variación en la arquitectura genética de los rasgos faciales entre poblaciones enfatiza la necesidad de llevar a cabo más estudios en poblaciones no europeas con el objetivo de caracterizar ampliamente la base

genética de la variación craneofacial en poblaciones humanas modernas. Este punto concuerda con los resultados observados en la diferencia de frecuencias alélicas entre los polimorfismos del gen *GHR* estudiados y complementa a fortalecer el argumento de la necesidad de llevar a cabo un mayor muestreo en distintas poblaciones mestizas e indígenas del continente americano.

Conclusiones

En este trabajo se evaluaron los patrones e intensidad de la IM y Modularidad entre tres módulos craneofaciales y cuatro variantes genéticas del gen receptor de la hormona del crecimiento.

Se encontró que las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados difieren significativamente de las frecuencias de las poblaciones previamente estudiadas al igual que las poblaciones de la base de datos 1000 genomas. No obstante, al analizar el desequilibrio de ligamiento se identificó que los cuatro polimorfismos estudiados están en desequilibrio de ligamiento, en acuerdo con los resultados de los estudios previos.

Al evaluar la variación morfológica craneofacial global y por las tres hipótesis de módulos se observó que los portadores de los genotipos GT y GG del polimorfismo rs6182 y CC del polimorfismo rs6184 tendieron a agruparse en el gráfico de dispersión del análisis de componentes principales en comparación con la distribución aleatoria de los otros genotipos. Lo cual estaría indiciando un posible efecto de los genotipos en la variación del tercio medio e inferior craneofacial.

En este sentido al evaluar el efecto de los genotipos de los polimorfismos del gen GHR en los patrones de IM y modularidad a través de un análisis de PLS se encontró que los genotipos GT y GG del polimorfismo rs6182 y el CC del polimorfismo rs6184 del gen GHR tienen un ligero efecto en la retrusión en el mentón mandibular.

Bibliografía

- Ackermann, Rebecca RodgersCheverud JM. 2004. Morphological Integration in Primate Evolution. In: Phenotypic Integration: Studying the Ecology and Evolution of Complex Phenotypes.
- Ackermann RR, Cheverud JM. 2002. Discerning evolutionary processes in patterns of tamarin (genus *Saguinus*) craniofacial variation. *Am J Phys Anthropol*.
- Ackermann RR, Cheverud JM. 2004. Detecting genetic drift versus selection in human evolution. *Proc Natl Acad Sci [Internet]* 101:17946–17951. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0405919102>
- Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2013. A field comes of age: Geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix* 24:7–14.
- Adel M, YAMAGUCHI T, TOMITA D, NAKAWAKI T, HIKITA Y, HAGA S, TAKAHASHI M, NADIM MA, EI-KENANY W, EI-KADI AA. 2017. Association of Growth Hormone Receptor Gene Variants with Mandibular Form in an Egyptian Population. *Showa Univ J Med Sci* 29:173–180.
- Adhikari K, Fuentes-Guajardo M, Quinto-Sánchez M, Mendoza-Revilla J, Chacón-Duque JC, Acuña-Alonzo V, Jaramillo C, Arias W, Lozano RB, Pérez GM. 2016. A genome-wide association scan implicates DCHS2, RUNX2, GLI3, PAX1 and EDAR in human facial variation. *Nat Commun* 7:11616.
- Adhikari K, Reales G, Smith AJP, Konka E, Palmén J, Quinto-Sánchez M, Acuña-Alonzo V, Jaramillo C, Arias W, Fuentes M, Pizarro M, Barquera Lozano R, Macín Pérez G, Gómez-Valdés J, Villamil-Ramírez H, Hunemeier T, Ramallo V, Silva de Cerqueira CC, Hurtado M, Villegas V, Granja V, Gallo C, Poletti G, Schuler-Faccini L, Salzano FM, Bortolini M-C, Canizales-Quinteros S, Rothhammer F, Bedoya G, Calderón R, Rosique J, Cheeseman M, Bhutta MF, Humphries SE, Gonzalez-José R, Headon D, Balding D, Ruiz-Linares A. 2015. A genome-wide association study identifies multiple loci for variation in human ear morphology. *Nat Commun [Internet]* 6:7500. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ncomms8500>
- Ascenzi F, Barberi L, Dobrowolny G, Villa Nova Bacurau A, Nicoletti C, Rizzuto E, Rosenthal N, Scicchitano BM, Musarò A. 2019. Effects of IGF-1 isoforms on

- muscle growth and sarcopenia. *Aging Cell* 18:e12954.
- Atchley WR, Hall BK. 1991. A model for development and evolution of complex morphological structures. *Biol Rev Camb Philos Soc*.
- de Azevedo S, Charlin J, González-José R. 2014. Identifying design and reduction effects on lithic projectile point shapes. *J Archaeol Sci [Internet]* 41:297–307. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.08.013>
- Ballesteros M, Leung K-C, Ross RJM, Iismaa TP, Ho KKY. 2000. Distribution and abundance of messenger ribonucleic acid for growth hormone receptor isoforms in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 85:2865–2871.
- Balliu B, Würtz RP, Horsthemke B, Wieczorek D, Böhringer S. 2014. Classification and Visualization Based on Derived Image Features: Application to Genetic Syndromes. *PLoS One [Internet]* 9:e109033. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0109033>
- Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics [Internet]* 21:263–265. Available from: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/bth457>
- Bastir M, Rosas A. 2005a. Hierarchical nature of morphological integration and modularity in the human posterior face. *Am J Phys Anthropol* 128:26–34.
- Bastir M, Rosas A. 2005b. Hierarchical nature of morphological integration and modularity in the human posterior face. *Am J Phys Anthropol*.
- Bastir M, Rosas A, O'higgins P. 2006. Craniofacial levels and the morphological maturation of the human skull. *J Anat*.
- Bastir M, Rosas A, Stringer C, Manuel Cuétara J, Kruszynski R, Weber GW, Ross CF, Ravosa MJ. 2010. Effects of brain and facial size on basicranial form in human and primate evolution. *J Hum Evol*.
- Betti L, Balloux F, Hanihara T, Manica A. 2010. The relative role of drift and selection in shaping the human skull. *Am J Phys Anthropol* 141:76–82.
- Binder G, Baur F, Schweizer R, Ranke MB. 2006. The d3-growth hormone (GH) receptor polymorphism is associated with increased responsiveness to GH in Turner syndrome and short small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol*

Metab 91:659–664.

Bonfante B, Faux P, Navarro N, Mendoza-Revilla J, Dubied M, Montillot C, Wentworth E, Poloni L, Varón-González C, Jones P, Xiong Z, Fuentes-Guajardo M, Palmal S, Chacón-Duque JC, Hurtado M, Villegas V, Granja V, Jaramillo C, Arias W, Barquera R, Everardo-Martínez P, Sánchez-Quinto M, Gómez-Valdés J, Villamil-Ramírez H, Silva de Cerqueira CC, Hünemeier T, Ramallo V, Liu F, Weinberg SM, Shaffer JR, Stergiakouli E, Howe LJ, Hysi PG, Spector TD, Gonzalez-José R, Schüller-Faccini L, Bortolini MC, Acuña-Alonzo V, Canizales-Quinteros S, Gallo C, Poletti G, Bedoya G, Rothhammer F, Thauvin-Robinet C, Faivre L, Costedoat C, Balding D, Cox T, Kayser M, Duplomb L, Yalcin B, Cotney J, Adhikari K, Ruiz-Linares A. 2021. A GWAS in Latin Americans identifies novel face shape loci, implicating VPS13B and a Denisovan introgressed region in facial variation. *Sci Adv* 7:1–19.

Bookstein FL. 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. *Stat Sci*.

Bookstein FL. 1996. Biometrics, biomathematics and the morphometric synthesis. *Bull Math Biol*.

Buikstra JE, Frankenberg SR, Konigsberg LW. 1990. Skeletal biological distance studies in American Physical Anthropology: Recent trends. *Am J Phys Anthropol* 82:1–7.

Buschang PH, Gandini LG. 2002. Mandibular skeletal growth and modelling between 10 and 15 years of age. *Eur J Orthod* 24:69–79.

Buschang PH, Jacob H, Carrillo R. 2013. The morphological characteristics, growth, and etiology of the hyperdivergent phenotype. *Semin Orthod* [Internet] 19:212–226. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.sodo.2013.07.002>

Carey JW, Steegmann AT. 1981. Human nasal protrusion, latitude, and climate. *Am J Phys Anthropol*.

Carlson DS. 1976. Temporal variation in prehistoric Nubian crania. *Am J Phys Anthropol*.

Carlson DS, van Gerven DP. 1979. Diffusion, Biological Determinism, and Biocultural Adaptation in the Nubian Corridor. *Am Anthropol*.

- Carrascosa A, Audí L, Esteban C, Fernandez-Cancio M, Andaluz P, Gussinyé M, Clemente M, Yeste D, Albisu MA. 2008. Growth hormone (GH) dose, but not exon 3-deleted/full-length GH receptor polymorphism genotypes, influences growth response to two-year GH therapy in short small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol Metab* 93:147–153.
- Carrascosa A, Esteban C, Espadero R, Fernandez-Cancio M, Andaluz P, Clemente M, Audi L, Wollmann H, Fryklund L, Parodi L. 2006. The d3/fl-growth hormone (GH) receptor polymorphism does not influence the effect of GH treatment (66 µg/kg per day) or the spontaneous growth in short non-GH-deficient small-for-gestational-age children: results from a two-year controlled prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3281–3286.
- Carson EA. 2006a. Maximum likelihood estimation of human craniometric heritabilities. *Am J Phys Anthropol* [Internet] 131:169–180. Available from: <http://www.amazon.com/dp/0521818478>
- Carson EA. 2006b. Maximum likelihood estimation of human craniometric heritabilities. *Am J Phys Anthropol Off Publ Am Assoc Phys Anthropol* 131:169–180.
- Chai Y. 2015. *Craniofacial development*. Academic Press.
- Chaves VE, Júnior FM, Bertolini GL. 2013. The metabolic effects of growth hormone in adipose tissue. *Endocrine* [Internet] 44:293–302. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12020-013-9904-3>
- Cheverud J.M. 1982. Phenotypic, Genetic, and Environmental Morphological Integration in the Cranium. *Evolution* (N Y) 36:499–516.
- Cheverud JM. 1982. Phenotypic, Genetic, and Environmental Morphological Integration in the Cranium. *Evolution* (N Y).
- Cheverud JM. 1988a. A COMPARISON OF GENETIC AND PHENOTYPIC CORRELATIONS. *Evolution* (N Y) [Internet] 42:958–968. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291096-8644%28199712%29104%3A4%3C449%3A%3AAID-AJPA2%3E3.0.CO%3B2-N>
- Cheverud JM. 1988b. Spatial-analysis in morphology illustrated by rhesus macaque

- cranial growth and integration. In: American Journal of Physical Anthropology. Vol. 75. WILEY-LISS DIV JOHN WILEY & SONS INC 605 THIRD AVE, NEW YORK, NY 10158-0012. p 195–196.
- Cheverud JM. 1995. Morphological Integration in the Saddle-Back Tamarin (*Saguinus fuscicollis*) Cranium. *Am Nat*.
- Cheverud JM. 1996. Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *Am Zool*.
- Cheverud JM. 2004. Modular pleiotropic effects of quantitative trait loci on morphological traits. In: *Modularity in Development and Evolution*.
- Cheverud JM, Kohn LAP, Konigsberg LW, Leigh SR. 1992. Effects of fronto-occipital artificial cranial vault modification on the cranial base and face. *Am J Phys Anthropol*.
- Cheverud JM, Routman EJ, Irschick DJ. 1997. Pleiotropic effects of individual gene loci on mandibular morphology. *Evolution (N Y)*.
- Ciochon RL, Nisbett RA, Corruccini RS. 1997. Dietary consistency and craniofacial development related to masticatory function in minipigs. *J Craniofac Genet Dev Biol*.
- Claes P, Shriver MD. 2016. New Entries in the lottery of facial GWAS discovery. *PLoS Genet* 12.
- Cole JB, Manyama M, Kimwaga E, Mathayo J, Larson JR, Liberton DK, Lukowiak K, Ferrara TM, Riccardi SL, Li M, Mio W, Prochazkova M, Williams T, Li H, Jones KL, Klein OD, Santorico SA, Hallgrímsson B, Spritz RA. 2016. Genomewide Association Study of African Children Identifies Association of SCHIP1 and PDE8A with Facial Size and Shape. *PLoS Genet* 12:1–19.
- Cole JB, Manyama M, Larson JR, Liberton DK, Ferrara TM, Riccardi SL, Li M, Mio W, Klein OD, Santorico SA, Hallgrímsson B, Spritz RA. 2017. Human facial shape and size heritability and genetic correlations. *Genetics* 205:967–978.
- Cole JB, Spritz RA. 2017. The Genetics of Facial Morphology. In: eLS. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. p 1–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470015902.a0027240>
- Coquerelle M, Prados-Frutos JC, Rojo R, Mitteroecker P, Bastir M. 2013. Short

- faces, big tongues: Developmental origin of the human chin. *PLoS One* 8:1–9.
- Corruccini RS, Beecher RM. 1984. Occlusofacial morphological integration lowered in baboons raised on soft diet. *J Craniofac Genet Dev Biol*.
- Corti M. 1993. Geometric morphometrics: An extension of the revolution. *Trends Ecol Evol*.
- von Cramon-Taubadel N. 2009. Revisiting the homology hypothesis: the impact of phenotypic plasticity on the reconstruction of human population history from craniometric data. *J Hum Evol* [Internet] 57:179–190. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhevol.2009.05.009>
- von Cramon-Taubadel N. 2011. Global human mandibular variation reflects differences in agricultural and hunter-gatherer subsistence strategies. *Proc Natl Acad Sci* [Internet] 108:19546–19551. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1113050108>
- Von Cramon-Taubadel N. 2014. The microevolution of modern human cranial variation: Implications for hominin and primate evolution. *Ann Hum Biol* 41:323–335.
- Crawford MH. 2006. *Anthropological genetics: Theory, methods and applications*.
- Crognier E. 1981. The influence of climate on the physical diversity of European and Mediterranean populations. *J Hum Evol*.
- Crouch DJM, Winney B, Koppen WP, Christmas WJ, Hutnik K, Day T, Meena D, Boumertit A, Hysi P, Nessa A, Spector TD, Kittler J, Bodmer WF. 2018. Genetics of the human face: Identification of large-effect single gene variants. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]:201708207. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1708207114>
- Crow JF, Kimura M. 1970. *An Introduction to Population Genetics Theory*. Cours l'University Oslo Dep Informatics.
- Daegling DJ. 2007. Relationship of bone utilization and biomechanical competence in hominoid mandibles. *Arch Oral Biol* 52:51–63.
- Dekhoda F, Lee CMM, Medina J, Brooks AJ. 2018. The growth hormone receptor: Mechanism of receptor activation, cell signaling, and physiological aspects. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9:1–23.

- Del MA, Amaguchi TY, Omita DT. 2017. Association of Growth Hormone Receptor Gene Variants with Mandibular Form in an Egyptian Population.
- Djordjevic J, Zhurov AI, Richmond S. 2016. Genetic and environmental contributions to facial morphological variation: A 3D population-based twin study. *PLoS One* 11:1–20.
- Ehrich TH, Vaughn TT, Koreishi SF, Linsey RB, Pletscher LS, Cheverud JM. 2003. Pleiotropic Effects on Mandibular Morphology I. Developmental Morphological Integration and Differential Dominance. *J Exp Zool Part B Mol Dev Evol*.
- Enlow DH, Moyers RE. 1982. *Handbook of facial growth*. WB Saunders Company.
- Van Erum R, Mulier G, Carels C, De Zegher F. 1998. Craniofacial growth and dental maturation in short children born small for gestational age: effect of growth hormone treatment. *Horm Res Paediatr* 50:141–146.
- Esteve-Altava B, Boughner JC, Diogo R, Villmoare BA, Rasskin-Gutman D. 2015. Anatomical network analysis shows decoupling of modular lability and complexity in the evolution of the primate skull. *PLoS One* 10:1–17.
- Falconer DS, Mackay TFC. 1996. *Introducción a la genética cuantitativa*.
- Felice RN, Watanabe A, Cuff AR, Hanson M, Bhullar B-AS, Rayfield ER, Witmer LM, Norell MA, Goswami A. 2020. Decelerated dinosaur skull evolution with the origin of birds. *PLOS Biol* [Internet] 18:e3000801. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.3000801>
- Fitton LC, Shi JF, Fagan MJ, O'Higgins P. 2012. Masticatory loadings and cranial deformation in *Macaca fascicularis*: A finite element analysis sensitivity study. *J Anat*.
- Fjørtoft MI, Sevely A, Boetto S, Kessler S, Sarramon MF, Rolland M. 2007. Prenatal diagnosis of craniosynostosis: Value of MR imaging. *Neuroradiology* 49:515–521.
- Franciscus RG, Long JC. 1991a. Variation in human nasal height and breadth. *Am J Phys Anthropol* 85:419–427.
- Franciscus RG, Long JC. 1991b. Variation in human nasal height and breadth. *Am J Phys Anthropol*.
- Friedlaender JS. 1975. *Patterns of human variation: The demography, genetics, and*

- phenetics of Bougainville Islanders. Harvard University Press.
- Gignoux CR, Henn BM, Mountain JL. 2011. Rapid, global demographic expansions after the origins of agriculture. *Proc Natl Acad Sci*.
- Gkantidis N, Halazonetis DJ. 2011. Morphological integration between the cranial base and the face in children and adults. *J Anat*.
- Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, Rotwein PS, Parks JS, Laron Z, Wood WI. 1989. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Natl Acad Sci*.
- Gómez-Valdés JA, Hünemeier T, Contini V, Acuña-Alonzo V, Macin G, Ballesteros-Romero M, Corral P, Ruiz-Linares A, Sánchez-Mejorada G, Canizales-Quinteros S, Martínez-Abadías N, Salzano FM, González-José R, Bortolini MC. 2013. Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) variants and craniofacial variation in Amerindians and related populations. *Am J Hum Biol* 25:12–19.
- González-José R, Van Der Molen S, González-Pérez E, Hernández M. 2004. Patterns of phenotypic covariation and correlation in modern humans as viewed from morphological integration. *Am J Phys Anthropol* [Internet] 123:69–77. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajpa.10302>
- González-José R, Neves W, Lahr MM, González S, Pucciarelli H, Hernández Martínez M, Correal G. 2005. Late pleistocene/holocene craniofacial morphology in mesoamerican paleoindians: Implications for the peopling of the new world. *Am J Phys Anthropol* 128:772–780.
- Gonzalez S, Jiménez-López JC, Hedges R, Huddart D, Ohman JC, Turner A, Pompa y Padilla JA. 2003. Earliest humans in the Americas: new evidence from México. *J Hum Evol* 44:379–387.
- Goodwin AF, Larson JR, Jones KB, Liberton DK, Landan M, Wang Z, Boekelheide A, Langham M, Mushegyan V, Oberoi S, Brao R, Wen T, Johnson R, Huttner K, Grange DK, Spritz RA, Hallgrímsson B, Jheon AH, Klein OD. 2014. Craniofacial morphometric analysis of individuals with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Mol Genet Genomic Med* [Internet] 2:422–429. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mgg3.84>

- Goswami A, Polly PD. 2010a. Methods for Studying Morphological Integration and Modularity. *Paleontol Soc Pap* 16:213–243.
- Goswami A, Polly PD. 2010b. The influence of modularity on cranial morphological disparity in carnivora and primates (mammalia). *PLoS One*.
- Griffin JN, Sondalle SB, del Viso F, Baserga SJ, Khokha MK. 2015. The ribosome biogenesis factor Nol11 is required for optimal rDNA transcription and craniofacial development in *Xenopus*. *PLoS Genet* 11.
- Gröning F, Liu J, Fagan MJ, O’Higgins P. 2011. Why do humans have chins? Testing the mechanical significance of modern human symphyseal morphology with finite element analysis. *Am J Phys Anthropol* 144:593–606.
- Grulich-henn R, Bettendorf M, Pantel J, Strasburger CJ, Heinrich UDO, Amselem S. 2003. Heterozygous Nonsense Mutation in Exon 3 of the Growth Hormone Receptor (GHR) in Severe GH Insensitivity (Laron Syndrome) and the Issue of the Origin and Function of the GHRd3 Isoform. 88:1705–1710.
- Guglielmino-Matessi CR, Gluckman P, Cavalli-Sforza LL. 1979. Climate and the evolution of skull metrics in man. *Am J Phys Anthropol* 50:549–564.
- Gunz P, Harvati K. 2007. The Neanderthal “chignon”: Variation, integration, and homology. *J Hum Evol*.
- Gunz P, Mitteroecker P, Bookstein FL. 2005. Semilandmarks in three dimensions. In: *Modern morphometrics in physical anthropology*. Springer. p 73–98.
- Hallgrímsson B, Lieberman DE, Liu W, Ford-Hutchinson AF, Jirik FR. 2007. Epigenetic interactions and the structure of phenotypic variation in the cranium. *Evol Dev* 9:76–91.
- Hallgrímsson B, Willmore K, Dorval C, Cooper DML. 2004. Craniofacial variability and modularity in macaques and mice. *J Exp Zool Part B Mol Dev Evol*.
- Hamm JA, Robin NH. 2015. Newborn craniofacial malformations: orofacial clefting and craniosynostosis. *Clin Perinatol* 42:321–336.
- Hammond P. 2007. The use of 3D face shape modelling in dysmorphology. *Arch Dis Child* 92:1120–1126.
- Hammond P, McKee S, Suttie M, Allanson J, Cobben J-M, Maas SM, Quarrell O, Smith ACM, Lewis S, Tassabehji M. 2014. Opposite effects on facial

- morphology due to gene dosage sensitivity. *Hum Genet* 133:1117–1125.
- Harpending HC. 1982. Chemical systematics and human evolution. *Biochem Asp Evol Biol*:213–256.
- Harvati K, Singh N, López EN. 2011. A three-dimensional look at the neanderthal mandible. In: *Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology*.
- Harvati K, Weaver TD. 2006. Human cranial anatomy and the differential preservation of population history and climate signatures. *Anat Rec - Part A Discov Mol Cell Evol Biol* 288:1225–1233.
- Heuzé Y, Martínez-Abadías N, Stella JM, Senders CW, Boyadjiev SA, Lo LJ, Richtsmeier JT. 2012. Unilateral and bilateral expression of a quantitative trait: Asymmetry and symmetry in coronal craniosynostosis. *J Exp Zool Part B Mol Dev Evol*.
- Holton NE, Bonner LL, Scott JE, Marshall SD, Franciscus RG, Southard TE. 2015. The ontogeny of the chin: An analysis of allometric and biomechanical scaling. *J Anat* 226:549–559.
- Hu D, Young NM, Li X, Xu Y, Hallgrímsson B, Marcucio RS. 2015. A dynamic Shh expression pattern, regulated by SHH and BMP signaling, coordinates fusion of primordia in the amniote face. *Development* 142:567–574.
- Hubbe M, Hanihara T, Harvati K. 2009. Climate signatures in the morphological differentiation of worldwide modern human populations. *Anat Rec* 292:1720–1733.
- Hublin JJ, Ben-Ncer A, Bailey SE, Freidline SE, Neubauer S, Skinner MM, Bergmann I, Le Cabec A, Benazzi S, Harvati K, Gunz P. 2017. New fossils from Jebel Irhoud, Morocco and the pan-African origin of *Homo sapiens*. *Nature*.
- Hünemeier T, Gómez-Valdés J, De Azevedo S, Quinto-Sánchez M, Passaglia L, Salzano FM, Sánchez-Mejorada G, Alonzo VA, Martínez-Abadías N, Bortolini MC, González-José R. 2014. FGFR1 signaling is associated with the magnitude of morphological integration in human head shape. *Am J Hum Biol* 26:164–175.
- Hunley KL, Healy ME, Long JC. 2009. The global pattern of gene identity variation reveals a history of long-range migrations, bottlenecks, and local mate exchange: Implications for biological race. *Am J Phys Anthropol* 139:35–46.

- Hylander WL. 1977. The Adaptive Significance of Eskimo Craniofacial Morphology. *Orofac Growth Dev Mouton*, Hague:129–169.
- Hylander WL, Johnson KR. 1997. In vivo bone strain patterns in the zygomatic arch of macaques and the significance of these patterns for functional interpretations of craniofacial form. *Am J Phys Anthropol*.
- Jiang X, Iseki S, Maxson RE, Sucov HM, Morriss-Kay GM. 2002. Tissue origins and interactions in the mammalian skull vault. *Dev Biol*.
- Jones KL, Jones MC, Del Campo M. 2013. *Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Kaifu Y, Kasai K, Townsend GC, Richards LC. 2003. Tooth Wear and the “Design” of the Human Dentition: A Perspective from Evolutionary Medicine. *Am J Phys Anthropol*.
- Kang EH, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Tomoyasu Y, Watanabe M, Yamaguchi M, Park SB, Maki K, Inoue I. 2009a. Association of the growth hormone receptor gene polymorphisms with mandibular height in a Korean population. *Arch Oral Biol* 54:556–562.
- Kang EH, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Tomoyasu Y, Watanabe M, Yamaguchi M, Park SB, Maki K, Inoue I. 2009b. Association of the growth hormone receptor gene polymorphisms with mandibular height in a Korean population. *Arch Oral Biol* [Internet] 54:556–562. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2009.03.002>
- Kendall DG. 1977. The diffusion of shape. *Adv Appl Probab* [Internet] 9:428–430. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0001867800028743/type/journal_article
- Kendall DG. 1984. Shape manifolds, procrustean metrics, and complex projective spaces. *Bull London Math Soc*.
- Kendall DG. 1985. Exact distributions for shapes of random triangles in convex sets. *Adv Appl Probab*.
- Kimura M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*.
- Klingenberg CP. 2008. Morphological integration and developmental modularity.

- Annu Rev Ecol Evol Syst 39:115–132.
- Klingenberg CP. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour* [Internet] 11:353–357. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>
- Klingenberg CP. 2013. Cranial integration and modularity: Insights into evolution and development from morphometric data. *Hystrix* 24:43–58.
- Klingenberg CP. 2015. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: Concepts, methods, and applications. *Symmetry (Basel)* 7:843–934.
- Klingenberg CP, Leamy LJ, Cheverud JM. 2004. Integration and Modularity of Quantitative Trait Locus Effects on Geometric Shape in the Mouse Mandible. *Genetics*.
- Klingenberg CP, Leamy LJ, Routman EJ, Cheverud JM. 2001. Genetic architecture of mandible shape in mice: Effects of quantitative trait loci analyzed by geometric morphometrics. *Genetics*.
- Kohn LAP. 1991. The Role of Genetics in Craniofacial Morphology and Growth. *Annu Rev Anthropol* [Internet] 20:261–278. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.an.20.100191.001401>
- Kolar JC, Munro IR, Farkas LG. 1987. Anthropometric evaluation of dysmorphology in craniofacial anomalies: Treacher Collins syndrome. *Am J Phys Anthropol*.
- Konfino R, Pertzalan A, Laron Z. 1975. Cephalometric measurements of familial dwarfism and high plasma immunoreactive growth hormone. *Am J Orthod* 68:196–201.
- Lande R. 1980. Genetic Variation and Phenotypic Evolution During Allopatric Speciation. *Am Nat*.
- Laron Z. 2004. Laron syndrome (primary growth hormone resistance or insensitivity): the personal experience 1958–2003. *J Clin Endocrinol Metab* 89:1031–1044.
- Larsen CS. 2015a. *Bioarchaeology: Interpreting behavior from the human skeleton*, second edition.
- Larsen CS. 2015b. *Bioarchaeology: interpreting behavior from the human skeleton*. Cambridge University Press.

- Learned-Miller E, Lu Q, Paisley A, Trainer P, Blanz V, Dedden K, Miller R. 2006. Detecting Acromegaly: Screening for Disease with a Morphable Model BT - Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2006. In: Larsen R, Nielsen M, Sparring J, editors. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. p 495–503.
- Lees FC, Crawford MH. 1976. Anthropometric variation in Tlaxcaltecan populations. *Tlaxcaltecan Prehistory, Demogr Morphol Genet*:61–80.
- Leiberman D. 1995. Testing hypotheses about recent human evolution from skulls. *Curr Anthropol* 36:159–197.
- Lele S, Bookstein FL. 1999. Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. *J Am Stat Assoc*.
- Leslie EJ, Taub MA, Liu H, Steinberg KM, Koboldt DC, Zhang Q, Carlson JC, Hetmanski JB, Wang H, Larson DE, Fulton RS, Kousa YA, Fakhouri WD, Naji A, Ruczinski I, Begum F, Parker MM, Busch T, Standley J, Rigdon J, Hecht JT, Scott AF, Wehby GL, Christensen K, Czeizel AE, Deleyiannis FWB, Schutte BC, Wilson RK, Cornell RA, Lidral AC, Weinstock GM, Beaty TH, Marazita ML, Murray JC. 2015. Identification of functional variants for cleft lip with or without cleft palate in or near PAX7, FGFR2, and NOG by targeted sequencing of GWAS loci. *Am J Hum Genet*.
- Lewinson D, Bialik GM, Hochberg Z. 1994. Differential effects of hypothyroidism on the cartilage and the osteogenic process in the mandibular condyle: recovery by growth hormone and thyroxine. *Endocrinology* 135:1504–1510.
- Li Y, Zhao W, Li D, Tao X, Xiong Z, Liu J, Zhang W, Ji A, Tang K, Liu F, Li C. 2019. EDAR, LYPLAL1, PRDM16, PAX3, DKK1, TNFSF12, CACNA2D3, and SUPT3H gene variants influence facial morphology in a Eurasian population. *Hum Genet* 138:681–689.
- Liberman D. 2011. *The evolution of the human head*. (Press TBP of HU, editor.).
- Lieberman D. 2011a. *The evolution of the human head*. Harvard University Press.
- Lieberman DE. 2008. Speculations about the selective basis for modern human craniofacial form. *Evol Anthropol* 17:55–68.
- Lieberman DE. 2011b. Epigenetic integration, complexity, and evolvability of the

- head: rethinking the functional matrix hypothesis. *Epigenetics Link genotype phenotype Dev Evol*:271–289.
- Lieberman DE, Krovitz GE, Yates FW, Devlin M, St. Claire M. 2004a. Effects of food processing on masticatory strain and craniofacial growth in a retrognathic face. *J Hum Evol*.
- Lieberman DE, Krovitz GE, Yates FW, Devlin M, St. Claire M. 2004b. Effects of food processing on masticatory strain and craniofacial growth in a retrognathic face. *J Hum Evol* 46:655–677.
- Liu F, Van Der Lijn F, Schurmann C, Zhu G, Chakravarty MM, Hysi PG, Wollstein A, Lao O, De Bruijne M, Ikram MA. 2012. A genome-wide association study identifies five loci influencing facial morphology in Europeans. *PLoS Genet* 8.
- Ludwiczak RL, Klingert KW, Rorman F. 1996. Alternative splicing of exon 3 of the human growth hormone receptor is the result of an unusual genetic polymorphism H3. 93:12394–12399.
- Lui JC, Colbert M, Cheung CSF, Ad M, Lee A, Zhu Z, Barnes KM, Dimitrov DS, Baron J. 2019. Cartilage-targeted IGF-1 treatment to promote longitudinal bone growth. *Mol Ther* 27:673–680.
- Manyama M, Larson JR, Liberton DK, Rolian C, Smith FJ, Kimwaga E, Gilyoma J, Lukowiak KD, Spritz RA, Hallgrimsson B. 2014. Facial morphometrics of children with NON-syndromic orofacial clefts in Tanzania. *BMC Oral Health* 14:1–9.
- Marroig G, Cheverud JM. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World Monkeys. *Evolution* (N Y).
- Marroig G, Cheverud JM. 2004. Did natural selection or genetic drift produce the cranial diversification of neotropical monkeys? *Am Nat*.
- Marshall SD, Low LE, Holton NE, Franciscus RG, Frazier M, Qian F, Mann K, Schneider G, Scott JE, Southard TE. 2011. Chin development as a result of differential jaw growth. *Am J Orthod Dentofac Orthop* [Internet] 139:456–464. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajodo.2009.05.038>
- Martínez-Abadías N, Esparza M, Sjøvold T, González-José R, Santos M, Hernández

- M. 2009a. Heritability of human cranial dimensions: Comparing the evolvability of different cranial regions. *J Anat* 214:19–35.
- Martínez-Abadías N, Esparza M, Sjøvold T, González-José R, Santos M, Hernández M, Klingenberg CP. 2012a. PERVASIVE GENETIC INTEGRATION DIRECTS THE EVOLUTION OF HUMAN SKULL SHAPE. *Evolution* (N Y) [Internet] 66:1010–1023. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1558-5646.2011.01496.x>
- Martínez-Abadías N, González-José R, González-Martín A, Van Der Molen S, Talavera A, Hernández P, Hernández M. 2006. Phenotypic evolution of human craniofacial morphology after admixture: A geometric morphometrics approach. *Am J Phys Anthropol* 129:387–398.
- Martínez-Abadías N, Heuzé Y, Wang Y, Jabs EW, Aldridge K, Richtsmeier JT. 2011. FGF/FGFR Signaling Coordinates Skull Development by Modulating Magnitude of Morphological Integration: Evidence from Apert Syndrome Mouse Models. *PLoS One* [Internet] 6:e26425. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0026425>
- Martínez-Abadías N, Mitteroecker P, Parsons TE, Esparza M, Sjøvold T, Rolian C, Richtsmeier JT, Hallgrímsson B. 2012b. The Developmental Basis of Quantitative Craniofacial Variation in Humans and Mice. *Evol Biol* 39:554–567.
- Martínez-Abadías N, Paschetta C, de Azevedo S, Esparza M, González-José R. 2009b. Developmental and genetic constraints on neurocranial globularity: Insights from analyses of deformed skulls and quantitative genetics. *Evol Biol*.
- Martínez-Abadías N, Esparza M, Sjøvold T, González-José R, Santos M, Hernández M. 2009. Heritability of human cranial dimensions: comparing the evolvability of different cranial regions. *J Anat* 214:19–35.
- McCane B, Kean MR. 2011. Integration of parts in the facial skeleton and cervical vertebrae. *Am J Orthod Dentofac Orthop*.
- McGuigan K. 2006. Studying phenotypic evolution using multivariate quantitative genetics. *Mol Ecol* 15:883–896.
- McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GRS, Thormann A, Flicek P, Cunningham F. 2016. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol*

- [Internet] 17:122. Available from:
<http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-016-0974-4>
- Mitteroecker P, Bookstein F. 2007. The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. *Syst Biol* 56:818–836.
- Mitteroecker P, Bookstein F. 2008. The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution* (N Y).
- Mitteroecker P, Bookstein F. 2009. The ontogenetic trajectory of the phenotypic covariance matrix, with examples from craniofacial shape in rats and humans. *Evolution* (N Y) 63:727–737.
- Mitteroecker P, Gunz P, Bernhard M, Schaefer K, Bookstein FL. 2004. Comparison of cranial ontogenetic trajectories among great apes and humans. *J Hum Evol.*
- Moore B, Whitehead A, Davies K. 2019. Short stature, growth hormone deficiency, and primary IGF-1 deficiency. In: *Advanced Practice in Endocrinology Nursing*. Springer. p 13–37.
- Moss ML. 1997. The functional matrix hypothesis revisited. 1. The role of mechanotransduction. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 112:8–11.
- Moss ML, Rankow RM. 1968. The role of the functional matrix in mandibular growth. *Angle Orthod* 38:95–103.
- Moss ML, Salentijn L. 1969a. The primary role of functional matrices in facial growth. *Am J Orthod* 55:566–577.
- Moss ML, Salentijn L. 1969b. The primary role of functional matrices in facial growth. *Am J Orthod* 55:566–577.
- Moss ML, Young RW. 1960a. A functional approach to craniology. *Am J Phys Anthropol* 18:281–292.
- Moss ML, Young RW. 1960b. A functional approach to craniology. *Am J Phys Anthropol* 18:281–292.
- Naini FB, Moss JP. 2004. Three-dimensional assessment of the relative contribution of genetics and environment to various facial parameters with the twin method. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 126:655–665.
- Nakawaki T, Yamaguchi T, Isa M, Kawaguchi A, Tomita D, Hikita Y, Suzuki-Tomoyasu Y, Adel M, Ishida H, Maki K, Kimura R. 2017. Growth hormone

- receptor gene variant and three-dimensional mandibular morphology. *Angle Orthod* 87:68–73.
- Neubauer S, Gunz P, Hublin JJ. 2010. Endocranial shape changes during growth in chimpanzees and humans: A morphometric analysis of unique and shared aspects. *J Hum Evol*.
- Noback ML, Harvati K, Spoor F. 2011. Climate-related variation of the human nasal cavity. *Am J Phys Anthropol* 145:599–614.
- Nuzhdin S V, Friesen ML, McIntyre LM. 2012. Genotype–phenotype mapping in a post-GWAS world. *Trends Genet* 28:421–426.
- Ohta T. 1996. The current significance and standing of neutral and nearly neutral theories. *BioEssays*.
- de Oliveira FB, Porto A, Marroig G. 2009. Covariance structure in the skull of Catarrhini: a case of pattern stasis and magnitude evolution. *J Hum Evol*.
- Olson EC, Miller RL. 1958. *Morphological Integration*. University of Chicago Press. Available from: <https://books.google.com.mx/books?id=wE6EoShshzgC>
- Pallares LF, Carbonetto P, Gopalakrishnan S, Parker CC, Ackert-Bicknell CL, Palmer AA, Tautz D. 2015. Mapping of craniofacial traits in outbred mice identifies major developmental genes involved in shape determination. *PLoS Genet* 11.
- Pantel J, Machinis K, Sobrier M, Duquesnoy P, Goossens M, Amselem S. 2000. Species-specific Alternative Splice Mimicry at the Growth Hormone Receptor Locus Revealed by the Lineage of Retroelements during. 275:18664–18669.
- Parsons TE, Schmidt EJ, Boughner JC, Jamniczky HA, Marcucio RS, Hallgrímsson B. 2011. Epigenetic integration of the developing brain and face. *Dev Dyn*.
- Paschetta C, De Azevedo S, Castillo L, Martínez-Abadías N, Hernández M, Lieberman DE, González-José R. 2010. The influence of masticatory loading on craniofacial morphology: A test case across technological transitions in the Ohio valley. *Am J Phys Anthropol* 141:297–314.
- Paul RG, McMahon CD, Elston MS, Conaglen J V. 2019. GH replacement titrated to serum IGF-1 does not reduce concentrations of myostatin in blood or skeletal muscle. *Growth Horm IGF Res* 44:11–16.

- Pearson OM. 2000. Postcranial remains and the origins of modern humans. *Evol Anthropol* 9:229–247.
- Pinhasi R, von Cramon-Taubadel N. 2009. Craniometric data supports demic diffusion model for the spread of agriculture into Europe. *PLoS One*.
- Pinhasi R, Stock JT. 2011. Human bioarchaeology of the transition to agriculture. John Wiley & Sons.
- Prescott SL, Srinivasan R, Marchetto MC, Grishina I, Narvaiza I, Selleri L, Gage FH, Swigut T, Wysocka J. 2015. Enhancer Divergence and cis-Regulatory Evolution in the Human and Chimp Neural Crest. *Cell* 163:68–83.
- Ravosa MJ, Congdon KA, Menegaz RA. 2013. Experimental Approaches to Musculoskeletal Function in Primates. In: *A Companion to Paleoanthropology*.
- Relethford J, Blangero J. 1990a. Detection of differential gene flow from patterns of quantitative variation. *Hum Biol* 62:5–25.
- Relethford JH. 1994. Craniometric variation among modern human populations. *Am J Phys Anthropol*.
- Relethford JH. 1997. Hemispheric difference in human skin color. *Am J Phys Anthropol* [Internet] 104:449–457. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291096-8644%28199712%29104%3A4%3C449%3A%3AAID-AJPA2%3E3.0.CO%3B2-N>
- Relethford JH. 2002. Apportionment of Global Human Genetic Diversity Based on Craniometrics and Skin Color. *Am J Phys Anthropol*.
- Relethford JH, Blangero J. 1990b. Detection of differential gene flow from patterns of quantitative variation. *Hum Biol*.
- Richmond S, Howe LJ, Lewis S, Stergiakouli E, Zhurov A. 2018. Facial genetics: A brief overview. *Front Genet* 9.
- Richtsmeier JT, DeLeon VB. 2009. Morphological integration of the skull in craniofacial anomalies. *Orthod Craniofac Res*.
- Rohlf FJ. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *J Classif*.
- Rohlf FJ, Slice D. 1990. Extensions of the procrustes method for the optimal

- superimposition of landmarks. *Syst Zool*.
- Le Roith D. 1997. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med* 336:633–640.
- Roosenboom J, Hens G, Mattern BC, Shriver MD, Claes P. 2016. Exploring the underlying genetics of craniofacial morphology through various sources of knowledge. *Biomed Res Int*.
- Roseman CC, Weaver TD. 2007. Molecules versus morphology? Not for the human cranium. *BioEssays* [Internet] 29:1185–1188. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/bies.20678>
- Rustagi N, Zhou A, Watkins WS, Gedvilaite E, Wang S, Ramesh N, Muzny D, Gibbs RA, Jorde LB, Yu F, Xing J. 2017. Extremely low-coverage whole genome sequencing in South Asians captures population genomics information. *BMC Genomics* 18:1–12.
- Dos Santos C, Essioux L, Teinturier C, Tauber M, Goffin V, Bougnères P. 2004. A common polymorphism of the growth hormone receptor is associated with increased responsiveness to growth hormone. *Nat Genet*.
- Santos FAB, Lemes RB, Otto PA. 2020. HW_TEST, a program for comprehensive HARDY-WEINBERG equilibrium testing. *Genet Mol Biol* [Internet] 43. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572020000400604&tlng=en
- Sardi ML, Novellino PS, Pucciarelli HM. 2006. Craniofacial morphology in the Argentine Center-West: Consequences of the transition to food production. *Am J Phys Anthropol* 130:333–343.
- Sasaki Y, Satoh K, Hayasaki H, Fukumoto S, Fujiwara T, Nonaka K. 2009. The P561T polymorphism of the growth hormone receptor gene has an inhibitory effect on mandibular growth in young children. *Eur J Orthod* 31:536–541.
- Scharf A, Laron Z. 1972. Skull Changes in Pituitary Dwarfism and the Syndrome of Familial Dwarfism with High Plasma Immunoreactive Growth Hormone-A Roentgenologic Study. *Horm Metab Res* 4:93–97.
- Schwartz JH. 2016. What constitutes Homo sapiens? Morphology versus received wisdom. *J Anthropol Sci* 94:65–80.
- Schwartz JH, Tattersall I. 2000. The human chin revisited: what is it and who has it?

- J Hum Evol [Internet] 38:367–409. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0047248499903391>
- Schwarze K, Buchanan J, Taylor JC, Wordsworth S. 2018. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. Genet Med [Internet] 00. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/gim.2017.247>
- Šešelj M, Duren DL, Sherwood RJ. 2015. Heritability of the human craniofacial complex. Anat Rec 298:1535–1547.
- Shaffer JR, Orlova E, Lee MK, Leslie EJ, Raffensperger ZD, Heike CL, Cunningham ML, Hecht JT, Kau CH, Nidey NL, Moreno LM, Wehby GL, Murray JC, Laurie CA, Laurie CC, Cole J, Ferrara T, Santorico S, Klein O, Mio W, Feingold E, Hallgrímsson B, Spritz RA, Marazita ML, Weinberg SM. 2016. Genome-Wide Association Study Reveals Multiple Loci Influencing Normal Human Facial Morphology. PLoS Genet 12:1–21.
- Sharma VP, Fenwick AL, Brockop MS, McGowan SJ, Goos JAC, Hoogeboom AJM, Brady AF, Jeelani NO, Lynch SA, Mulliken JB. 2013. Mutations in TCF12, encoding a basic helix-loop-helix partner of TWIST1, are a frequent cause of coronal craniosynostosis. Nat Genet 45:304.
- Sherwood RJ, Duren DL, Demerath EW, Czerwinski SA, Siervogel RM, Towne B. 2008. Quantitative genetics of modern human cranial variation. J Hum Evol 54:909.
- Singh N, Harvati K, Hublin JJ, Klingenberg CP. 2012a. Morphological evolution through integration: A quantitative study of cranial integration in Homo, Pan, Gorilla and Pongo. J Hum Evol.
- Singh N, Harvati K, Hublin JJ, Klingenberg CP. 2012b. Morphological evolution through integration: A quantitative study of cranial integration in Homo, Pan, Gorilla and Pongo. J Hum Evol.
- Sjøvold T. 1984. A report on the heritability of some cranial measurements and non-metric traits. In: Multivariate statistical methods in physical anthropology. Springer. p 223–246.
- Slice DE. 2006. Modern morphometrics in physical anthropology. Springer Science

& Business Media.

- Slice DE. 2007. Geometric morphometrics. *Annu Rev Anthropol*.
- Smith HF. 2011. The Role of Genetic Drift in Shaping Modern Human Cranial Evolution: A Test Using Microevolutionary Modeling. *Int J Evol Biol* [Internet] 2011:1–11. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ijeb/2011/145262/>
- Spencer Larsen C. 1995. Biological Changes in Human Populations with Agriculture. *Annu Rev Anthropol* [Internet] 24:185–213. Available from: <http://anthro.annualreviews.org/cgi/doi/10.1146/annurev.anthro.24.1.185>
- Sperber GH, Sperber SM, Guttman GD. 2010. Craniofacial embryogenetics and development. PMPH-USA.
- Stallings-Mann ML, Ludwiczak RL, Klinger KW, Rottman F. 1996. Alternative splicing of exon 3 of the human growth hormone receptor is the result of an unusual genetic polymorphism. *Proc Natl Acad Sci* 93:12394–12399.
- Stinson S, Bogin B, O'Rourke DH. 2012. Human biology: an evolutionary and biocultural perspective. John Wiley & Sons.
- Strait DS. 2001. Integration, phylogeny, and the hominid cranial base. *Am J Phys Anthropol* 114:273–297.
- Sydney N V., Machado FA, Hingst-Zaher E. 2012. Timing of ontogenetic changes of two cranial regions in *Sotalia guianensis* (Delphinidae). *Mamm Biol* [Internet] 77:397–403. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mambio.2012.04.007>
- Szabo-Rogers HL, Smithers LE, Yakob W, Liu KJ. 2010. New directions in craniofacial morphogenesis. *Dev Biol* [Internet] 341:84–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.11.021>
- Testut L, Latarjet A. 1988. Compendio de anatomía descriptiva. 22 Edición. España Salvat Ed.
- Tobón-Aroyave SI, Jiménez-Arbeláez GA, Alvarado-Gómez VA, Isaza-Guzmán DM, Flórez-Moreno GA, Pérez-Cano MI. 2018. Association analysis between rs6184 and rs6180 polymorphisms of growth hormone receptor gene regarding skeletal-facial profile in a Colombian population. *Eur J Orthod* 40:378–386.
- Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Inoue I, Maki K. 2009a. Further evidence for an association between mandibular height and the growth

- hormone receptor gene in a Japanese population. *Am J Orthod Dentofac Orthop*.
- Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Nakajima T, Inoue I, Maki K. 2009b. Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor gene in a Japanese population. *Am J Orthod Dentofac Orthop* [Internet] 136:536–541. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajodo.2007.10.054>
- Twigg SRF, Vorgia E, McGowan SJ, Peraki I, Fenwick AL, Sharma VP, Allegra M, Zaragkoulias A, Akha ES, Knight SJL. 2013. Reduced dosage of ERF causes complex craniosynostosis in humans and mice and links ERK1/2 signaling to regulation of osteogenesis. *Nat Genet* 45:308.
- Uz E, Alanay Y, Aktas D, Vargel I, Gucer S, Tuncbilek G, von Eggeling F, Yilmaz E, Deren O, Posorski N. 2010. Disruption of ALX1 causes extreme microphthalmia and severe facial clefting: expanding the spectrum of autosomal-recessive ALX-related frontonasal dysplasia. *Am J Hum Genet* 86:789–796.
- Waddington CH. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* 150:563–565.
- Wagner GP, Altenberg L. 1996a. Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* (N Y).
- Wagner GP, Altenberg L. 1996b. Perspective: complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* (N Y) 50:967–976.
- Wagner GP, Pavlicev M, Cheverud JM. 2007. The road to modularity. *Nat Rev Genet*.
- Ward RE, Jamison PL, Allanson JE. 2000. Quantitative approach to identifying abnormal variation in the human face exemplified by a study of 278 individuals with five craniofacial syndromes. *Am J Med Genet*.
- Weaver TD, Roseman CC, Stringer CB. 2008. Close correspondence between quantitative- and molecular-genetic divergence times for Neandertals and modern humans. *Proc Natl Acad Sci* [Internet] 105:4645–4649. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0709079105>
- Weinberg SM, Cornell R, Leslie EJ. 2018. Craniofacial genetics : Where have we

- been and where are we going ? :8–15.
- Weinberg SM, Parsons TE, Marazita ML, Maher BS. 2013. Heritability of face shape in twins: a preliminary study using 3D stereophotogrammetry and geometric morphometrics. *Dent* 3000 1.
- White T, Black MT, Folkens PA. 2011. *Human Osteology*. Third Edition.
- White TD, Folkens PA. 2005. *The human bone manual*. Elsevier.
- Whitlock MC. 1999. Neutral genetic variance in a metapopulation. *Genet Res Camb*.
- Wilamowska K, Fellow LS, D CHM. 2009. CLASSIFICATION OF 3D FACE SHAPE IN 22Q11 . 2 DELETION SYNDROME Department of Computer Science and Engineering , University of Washington ; Department of Pediatrics , University of Washington ; Craniofacial Center , Seattle Children ' s Hospital. *Image* (Rochester, NY):534–537.
- Wilkie AOM, Morriss-Kay GM. 2001. Genetics of craniofacial development and malformation. *Nat Rev Genet*.
- Williams-Blangero S, Blangero J. 1989. Anthropometric variation and the genetic structure of the Jirels of Nepal. *Hum Biol* 61:1–12.
- Willmore KE, Young NM, Richtsmeier JT. 2007. Phenotypic variability: Its components, measurement and underlying developmental processes. *Evol Biol* 34:99–120.
- Wójcik D, Beń-Skowronek I. 2020. Craniofacial morphology in children with growth hormone deficiency and Turner syndrome. *Diagnostics* 10.
- Wolf ZT, Leslie EJ, Arzi B, Jayashankar K, Karmi N, Jia Z, Rowland DJ, Young A, Safra N, Sliskovic S. 2014. A LINE-1 insertion in DLX6 is responsible for cleft palate and mandibular abnormalities in a canine model of Pierre Robin sequence. *PLoS Genet* 10.
- Wood B, Lieberman DE. 2001. Craniodental variation in *Paranthropus boisei*: A developmental and functional perspective. *Am J Phys Anthropol*.
- Wood B, Lonergan N. 2008. The hominin fossil record: taxa, grades and clades. *J Anat* [Internet] 212:354–376. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2409102&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>

- Wright S. 1984. Evolution and the genetics of populations, volume 3: experimental results and evolutionary deductions. University of Chicago press.
- Wroe S, Ferrara TL, McHenry CR, Curnoe D, Chamoli U. 2010. The craniomandibular mechanics of being human. In: Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.
- Yamada K, Kimmel DB. 1991. The effect of dietary consistency on bone mass and turnover in the growing rat mandible. Arch Oral Biol.
- Yamaguchi T, Maki K, Shibasaki Y. 2001a. Growth hormone receptor gene variant and mandibular height in the normal Japanese population. Am J Orthod Dentofac Orthop 119:650–653.
- Yamaguchi T, Maki K, Shibasaki Y. 2001b. Growth hormone receptor gene variant and mandibular height in the normal Japanese population. Am J Orthod Dentofac Orthop.
- You ZH, Fishman LS, Rosenblum RE, Subtelny JD. 2001. Dentoalveolar changes related to mandibular forward growth in untreated class II persons. Am J Orthod Dentofac Orthop 120:598–607.
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD. 2012. Geometric morphometrics for biologists: a primer. Academic Press.
- Zhou J, Lu Y, Gao XH, Chen YC, Lu JJ, Bai YX, Shen Y, Wang BK. 2005. The growth hormone receptor gene is associated with mandibular height in a Chinese population. J Dent Res.