



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD ALÉLICA Y DE HAPLOTIPOS DE LA REGIÓN
GENÓMICA QUE INCLUYE EL SISTEMA POLIMÓRFICO EN EL NÚMERO
VARIABLE DE REPETICIONES EN TANDEM (VNTR) DEL TERCER EXÓN DEL
GEN HUMANO *DRD4* EN POBLACIONES INDÍGENAS Y MESTIZAS MEXICANAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. NICOLÁS ORTEGA WALTER

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. CARLOS SABÁS CRUZ FUENTES

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

DRA. ADRIANA DIAZ ANZALDUA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD ALÉLICA Y DE HAPLOTIPOS DE LA REGIÓN
GENÓMICA QUE INCLUYE EL SISTEMA POLIMÓRFICO EN EL NÚMERO
VARIABLE DE REPETICIONES EN TANDEM (VNTR) DEL TERCER EXÓN DEL
GEN HUMANO *DRD4* EN POBLACIONES INDÍGENAS Y MESTIZAS MEXICANAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. NICOLÁS ORTEGA WALTER

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. CARLOS SABÁS CRUZ FUENTES

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

DRA. ADRIANA DIAZ ANZALDUA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ENTIDAD FACULTAD DE MEDICINA

OFICIO CPCB/281/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **26 de septiembre de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** del estudiante **NICOLÁS ORTEGA WALTER** con número de cuenta **311023532** con la tesis titulada **“ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD ALÉLICA Y DE HAPLOTIPOS DE LA REGIÓN GENÓMICA QUE INCLUYE EL SISTEMA POLIMÓRFICO EN EL NÚMERO VARIABLE DE REPETICIONES EN TÁNDEM (VNTR) DEL TERCER EXÓN DEL GEN HUMANO DRD4 EN POBLACIONES INDÍGENAS Y MESTIZAS MEXICANAS”**, realizada bajo la dirección del **DR. CARLOS SABÁS CRUZ FUENTES**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. ANGÉLICA GONZÁLEZ OLIVER
Vocal: DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUÍA STEYER
Vocal: DRA. BLANCA ZOILA GONZÁLEZ SOBRINO
Vocal: DRA. ANA JULIA AGUIRRE SAMUDIO
Secretario: DR. LUIS MEDRANO GONZÁLEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 21 de marzo de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos institucionales

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM por todos los conocimientos, apoyo y darme la oportunidad de hacer un posgrado.

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su financiamiento durante mis estudios de posgrado.

Al proyecto AVANCES IC17058.0 “Análisis de la variabilidad amplia del genoma a partir de muestras obtenidas del proyecto: estudio epidemiológico genético de trastornos mentales en adolescentes”.

Al proyecto PAPIIT IN400423 “Herencia biológica, cosmovisión y estrés entre coras, purépechas y huastecos”.

Al Dr. Carlos S. Cruz Fuentes por fungir como mi director de tesis, por gestionar y apoyarme durante el proceso de realización de este proyecto; y a el Dr. Luis Medrano González y a la Dra. Adriana Díaz Anzaldúa por orientarme durante todo el proceso académico.

Agradecimientos personales

A mi amada familia Norma, Onofre y Alan por sus cuidados, su esfuerzo, amor y dedicación. Todos mis logros son suyos también.

A todas y cada una de las personas anónimas que desinteresadamente donaron su material genético para realizar esta tesis. Durante todo el proyecto tuve presente que detrás de cada muestra había una persona con una identidad, con una historia de vida, con una familia, con conflictos y sueños.

A Marce por su amor y su apoyo incondicional. Por escuchar mil veces mis quejas y frustraciones sobre hacer un proyecto de investigación. Gracias por compartirlo todo conmigo en estos años.

A Fungi, Less, Lau, Andrea (Juana), Andrea (trompas), Pecas, Alondrita Boom, Pao, Mel y Sayuri por tolerarme todos estos años. Ya tienen el cielo ganado y un espacio en mi corazón.

A Karen, Denisse y Daniel por compartir juntos la desventura de hacer un posgrado e ir construyendo una linda amistad durante el proceso.

A la gente del Laboratorio de Genética Psiquiátrica: al Dr. Cruz, Magda, Andrés, Gaby y en especial a Amado por ayudarme durante el proceso experimental, por las largas charlas e incontables risas.

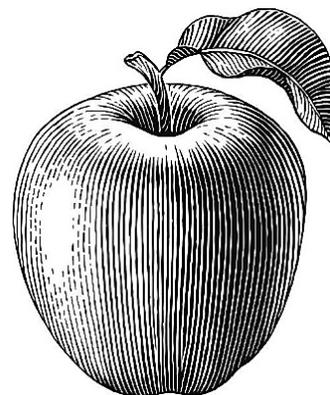
A la Dra. Blanca y la Dra. Ana Julia por adoptarme en el Laboratorio de Antropología Genética del IIA. Por mostrarme la belleza de estudiar la diversidad biológica de las poblaciones humanas.

A mis sinodales el Dr. Luis Medrano González, la Dra. Blanca Zoila González Sobrino, la Dra. Ana Julia Aguirre Samudio, el Dr. Roberto Edmundo Munguía Steyer y la Dra. Angélica González Oliver por revisar esta tesis y atender mis dudas e inquietudes.

Al Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz por adoptarme por un par de años en sus instalaciones.

A la UNAM por darme la oportunidad de estudiar y seguir mis sueños.

Dedicado a:
Esperanza Careta Pérez



Índice

Resumen.....	1
Abstract	2
Introducción	3
Nota aclaratoria	3
La dopamina y sus receptores	3
Receptor a dopamina tipo 4 (DR4)	4
Mecanismos de acción, función a nivel molecular y fisiológica	4
Gen del receptor a dopamina tipo 4 en el humano (<i>DRD4</i>)	6
Región VNTR 48 bp del <i>DR4</i>	7
Polimorfismo VNTR 48 bp del <i>DRD4</i> alrededor del mundo	9
La selección del <i>DRD4</i>	10
Polimorfismos del <i>DRD4</i> en los pueblos originarios de América	19
Polimorfismos del <i>DRD4</i> en la población indígena de México	20
La diversidad genética de México	21
Justificación	23
Objetivos	24
Objetivo general	24
Objetivos particulares	24
Antecedentes.....	24
Metodología	25
Sujetos	25
Análisis molecular	27
Análisis de datos	29
Resultados	30
Discusión	42
Conclusiones	48
Referencias bibliográficas	49
Apéndice (Tabla suplementaria 1).....	55

Resumen

El gen que codifica el receptor a dopamina tipo 4 (*DRD4*) ha generado gran interés para la psiquiatría por su relevancia como blanco terapéutico de algunas drogas con efecto antipsicótico, así como por la alta variabilidad presente en la secuencia de 48 pares de bases (pb) repetida en tándem (VNTR) localizada en su tercer exón. Esta variabilidad genera un funcionamiento diferencial en el receptor D4 al ser traducido, resaltando un funcionamiento diferencial en esta proteína G inhibitoria cuando se tiene el polimorfismo de siete repeticiones (7R). Este polimorfismo se ha asociado con distintos trastornos y fenotipos conductuales como: el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), la esquizofrenia, el alcoholismo, la toma de riesgos, el rasgo temperamental de búsqueda de novedades o tendencias migratorias. Si bien el polimorfismo de 7R se presenta con una frecuencia promedio del 20% a nivel mundial, es en el continente americano en donde se han reportado los valores más altos, alcanzando frecuencias de hasta el 78% en la población Ticuna de Brasil. El estudio de la diversidad de este gen en las poblaciones indígenas de México se ha restringido a sólo tres poblaciones y por ello el objetivo de este proyecto fue describir las frecuencias alélicas y genotípicas del *DRD4* en once poblaciones indígenas (627 individuos) distribuidas a lo largo del país y analizar su estructura poblacional.

Los datos obtenidos mostraron que existe una gran diversidad local. Por ejemplo, mientras que la frecuencia promedio del polimorfismo de 7R en las poblaciones indígenas del Norte del país fue menor al 15%, y 24% en la población Maya, las poblaciones del centro oeste de México fueron del 42% y aún más altas (> 50%) en las poblaciones indígenas de Oaxaca. Los resultados sugieren que las frecuencias de 7R encontradas en las poblaciones indígenas del norte del país son similares a las encontradas en las poblaciones indígenas identificadas en Estados Unidos, mientras que parece existir un incremento de las frecuencias alélicas del 7R conforme las poblaciones se distribuyen hacia el sur. Las frecuencias altas del 7R en el sur de México podrían ser producto de un evento de selección natural, o bien de migración diferencial asociada a la conducta de búsqueda de novedad a su vez asociada al alelo 7R.

Abstract

The gene that encodes dopamine receptor type 4 (DRD4) has generated great interest in psychiatry due to its relevance as a therapeutic target for some drugs with antipsychotic effect. In the same way, due to the large number of polymorphisms that it presents due to a 48 bp sequence repeated in tandem from two to eleven times called (VNTR) located in its third exon.

This variability generates a differential functioning in the D4 receptor, highlighting a malfunction in inhibitory G protein when the polymorphism of seven repetitions (7R) is present. This polymorphism has been associated with different disorders such as ADHD and schizophrenia; as well as alcoholism, risk taking, novelty seeking trait, and migrations. Although the 7R polymorphism has a frequency of 20% worldwide, it has been reported the highest frequency in America, with the highest frequencies being the Ticuna population of Brazil with a 78% frequency. The study of this gene in indigenous populations of Mexico has been carried out in three populations.

The objective of this project was to describe the allelic and genotypic frequencies of DRD4 in individuals belonging to eleven populations (627 individuals) distributed throughout the country and to evaluate the existence of a population sub-structure in Mexico related to this polymorphism.

AMOVA analyzes showed that there is a sub-structure between populations related to DRD4 frequencies. The frequency of the 7R polymorphism in the indigenous populations of the North of the country was <15%. On the other hand, the populations of central western of Mexico maintain frequencies of 42% on average; while the indigenous populations belonging to the state of Oaxaca were >50%. In the case of the Mayan population, the frequency of 7R was 24%. The results suggest that the frequencies of 7R found in the indigenous populations of the north of the country coincide with those found in indigenous populations of the United States, while there seems to be an increase in the allele frequencies of the 7R as the populations are distributed towards the south. The high frequencies of 7R in southern Mexico could be the product of a natural selection event or genetic drift.

Introducción

El estudio del gen del receptor a dopamina tipo 4 (*DRD4*) ha sido de gran relevancia en la psiquiatría por ser blanco terapéutico de distintos antipsicóticos, por tener una gran cantidad de polimorfismos dispersos en todo el mundo y por su asociación con distintos trastornos psiquiátricos y rasgos de comportamiento, en los cuales la efectividad terapéutica de distintas drogas es variable. Por ello es importante entender la distribución de estos en la mayor cantidad de poblaciones. Hasta el momento de iniciar este trabajo, sólo se habían reportado datos de la diversidad genética del *DRD4* para poblaciones urbanas (mestizas) en la Ciudad de México, Guadalajara y en tres poblaciones indígenas: tarahumara, mixe y maya. Con el objeto de expandir esta información, este trabajo se enfocó en determinar el patrón de distribución espacial de la variación de una región altamente polimórfica (VNTR 48 pb en el tercer exón del gen *DRD4*) en once poblaciones indígenas distribuidas a lo largo del país.

Nota aclaratoria

Esta tesis fue realizada en gran parte en el periodo que comprende la pandemia de COVID-19 lo cual limitó severamente el trabajo experimental debido principalmente a las limitaciones de acceso a los laboratorios impuestas por el Sector Salud. Por esta razón los objetivos en esta tesis tuvieron que ser acotados a un estudio de la diversidad alélica y genotípica de los polimorfismos del *DRD4* en poblaciones indígenas mexicanas.

- La dopamina y sus receptores

La dopamina (DA) es un neurotransmisor de la familia de las catecolaminas con una enorme importancia tanto para la biología de los organismos, como en la historia de las neurociencias. Inicialmente a esta molécula se le consideró sólo como un precursor de la norepinefrina a través de la catálisis por la enzima dopamina β -hidroxilasa, pero esta idea cambió cuando en 1957 Arvid Carlsson¹ y sus colaboradores encontraron en el núcleo estriado de ratas una cantidad importante de DA sugiriendo que esta molécula podría fungir como neurotransmisor independiente. Tanto este hallazgo, como otras investigaciones subsecuentes estimularon el desarrollo de diversas drogas como la clozapina, el haloperidol y la risperidona que al incidir en la señalización neuronal dopaminérgica se consideraron candidatos viables para formar parte del *armamentarium* farmacológico orientado al tratamiento de diversos problemas y enfermedades psiquiátricas, como la esquizofrenia. La relevancia neurobiológica de la dopamina radica en su distribución amplia a lo largo del

¹ Cabe destacar que los estudios de Carlsson lo hicieron acreedor al premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 2000 (Glowinski, 2017; Yeragani et al., 2010)

Sistema Nervioso Central (SNC) y a la gran diversidad de procesos fisiológicos en los que parece jugar un papel importante, los cuales incluyen entre otros, la actividad motora, los sistemas de motivación y la recompensa, el aprendizaje y la memoria (Rondou & Haegeman, 2010).

Resulta aquí importante señalar que todos estos procesos requieren como paso inicial la unión de la DA a un grupo de proteínas receptoras de membrana localizadas en diversos órganos y tejidos, de entre los que se destacan aquellos receptores localizados en el SNC.

Estas proteínas receptoras a dopamina (DR) pertenecen a la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) que poseen como elemento estructural común varios dominios transmembranales. Los DR se clasifican en dos grupos principales: los receptores tipo-D1 constituidos por los subtipos D1 y D5, que se caracterizan por acoplarse intracelularmente a proteínas G α s los cuales activan el sistema de transducción de señales mediado por el incremento de los niveles de AMPc, y los receptores tipo-D2 a los cuales pertenecen los subtipos D2L, D2S, D3 y D4 los cuales interactúan con proteínas G α i y G α o, asociados a la disminución los niveles de AMPc (Osinga et al., 2017; Fig 1).

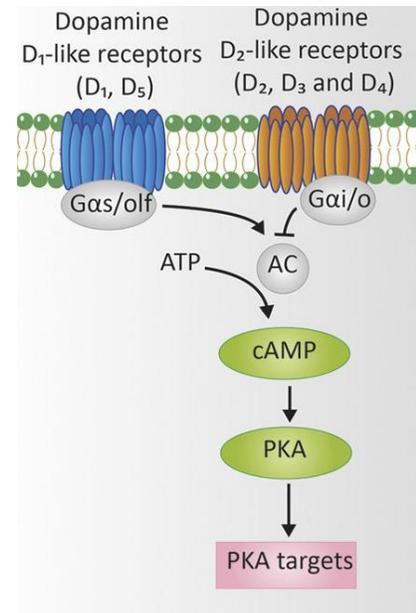


Fig 1 Mecanismos de señalización de los Receptores a dopamina. En la izquierda se muestra la familia D1 (activadora); A la derecha se muestra la familia D2 (inhibitoria). Modificado de Osinga et al., 2017.

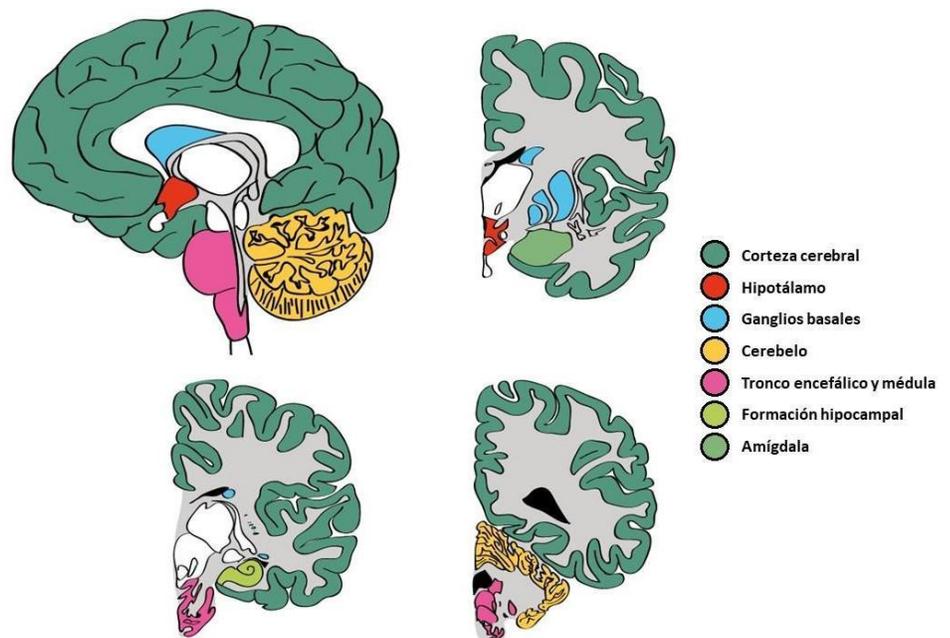
Receptor a dopamina tipo 4 (DR4)

- Mecanismos de acción, función a nivel molecular y fisiológica

Una manera indirecta de establecer la distribución de una proteína en un organismo es el identificar dónde y en qué momento se expresa la secuencia genómica que la codifica. Según el *Human Protein Atlas* (2021), se ha reportado la expresión de transcritos del receptor a dopamina tipo 4 en múltiples órganos y tejidos del cuerpo humano, lo que sustenta su participación en la regulación de la presión sanguínea, la función renal, la vasodilatación y la motilidad gastrointestinal (Bateup et al., 2008).

Particularmente relevante es la presencia del receptor a dopamina tipo 4 en el SNC en donde se encuentra ampliamente distribuido, aun cuando de todos los DR el subtipo D4 es el que menos abundantemente se expresa en el cerebro (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Se ha descrito la presencia de mRNA derivado de la expresión del gen *DRD4* en la corteza cerebral, bulbo olfatorio, hipocampo, amígdala, ganglios basales, tálamo, hipotálamo, mesencéfalo, tronco encefálico y cerebelo (Fig 2). Otros trabajos mencionan la presencia de mRNA en la corteza frontal, el bulbo olfatorio, la amígdala, el mesencéfalo y particularmente una expresión alta en la retina (Bahena-Trujillo, 2000).

Fig 2 Imagen modificada de Human Protein Atlas (2021) donde se pueden ver las estructuras donde se ha reportado la expresión de mRNA del gen DRD4 en humanos.



Por otra parte la proteína DRD4 posee a nivel de su secuencia de aminoácidos, aproximadamente un 50% de similitud con los otros receptores de la familia tipo 2 (Jatana et al., 2015).

En el SNC, la función de la proteína DRD4 se asocia principalmente a la señalización mediada por la inervación de neuronas dopaminérgicas. Estas neuronas generan grandes cantidades de conexiones aferentes dirigidas principalmente al núcleo estriado (núcleo del

cerebro medio- substancia negra-estriado dorsal); y a la vía mesolímbica (núcleo del cerebro medio- área ventral tegmental- bulbo olfatorio), siendo esta última una ruta neural claramente asociada al sistema de recompensa (Martel & Gatti, 2020). A nivel subcelular el receptor del DRD4 se localiza fundamentalmente en las regiones postsinápticas, en las espinas dendríticas del estriado y la substancia *nigra*. El acoplamiento de uno de sus dominios intracelulares (i.e. tercer asa) con una proteína Gi provoca la disminución de los niveles de AMPc, lo que a su vez reduce la actividad de la proteína cinasa A (PKA; Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Martel & Gatti McArthur, 2020).

Beaulieu et al., 2006 refieren que las principales vías de señalización en el estriado (PKA/DARPP-32; AKT/ GSK3; ERK) están relacionadas con la actividad locomotora mediada por vías dopaminérgicas, haciendo de los receptores a dopamina un elemento molecular crucial para el desplazamiento de los individuos. En resumen, todos estos mecanismos indican una fuerte conexión existente entre la activación de la proteína DRD4 y el sistema de recompensa, la respuesta motriz y sus consecuencias en el comportamiento. Más aún, diferencias en la estructura conformacional de la tercera asa intracelular de la molécula parecen asociarse con una eficiencia diferencial de los antipsicóticos (Woods, 2010).

Gen del receptor a dopamina tipo 4 en el humano (*DRD4*)

El gen del *DRD4* humano fue clonado y descrito por primera vez por Van Tol et al., (1991), quienes identificaron su localización en el brazo corto del cromosoma 11 (11p 15.5). La secuencia del mismo se caracteriza por ser rica en citosinas y guaninas, así como por poseer tres regiones intrónicas y 4 exones (Aguirre-Samudio & Nicolini, 2005; Beaulieu & Gainetdinov, 2011). El gen *DRD4* posee múltiples sistemas alélicos a lo largo de su secuencia; por lo que se considera uno de los genes más polimórficos en el humano. Entre estos se puede mencionar un polimorfismo identificado por la enzima de restricción de tipo II *SmaI* y otro por la enzima *PstI*, ambos presentes en la región no codificante en el extremo 5'; una sustitución de una guanina (G) por una citosina (C) en el nucleótido -11 y otra en el tercer exón de una timina (T) por una guanina, así como una secuencia de 6 a 10 guaninas continuas en el intrón 1; posee también una duplicación de 12 pb y otra de 13 pb en el primer exón. Otras modificaciones relevantes son la sustitución en la región +31 donde se modifica el codón 11 de glicina por arginina y una delección poco frecuente de 21 pb localizada en +106 - +126; posee además una modificación en la región promotora -521/C

Fig 3C), La primera descripción de este sistema polimórfico tipo VNTR ocurrió un año después de su clonación (Van Tol et al., 1992) en un artículo que describió la presencia de tres o más variantes del *DRD4*, llamadas en ese momento como D4.2, D4.4 y D4.7, asociadas a secuencias de 48 pb que se repetían en tándem 2, 4 ó 7 veces con ligeras variaciones entre las secuencias (Fig 3B). Como se mencionó, se predice que esta región al traducirse constituye la tercera asa que une los segmentos transmembranales 3 y 4 de la proteína. Dada la variabilidad de esta secuencia codificante se anticipa que deben generarse receptores que poseen un tamaño variable en esta región intracelular. Paralelamente se reportó que el tamaño de la tercera asa de los GPCRs se asocia a efectos diferenciales en la transducción de señales al interactuar con proteínas G (Dowd, 1992; Fig 4).

Actualmente se sabe que la secuencia de 48 pb se puede repetir desde dos a once

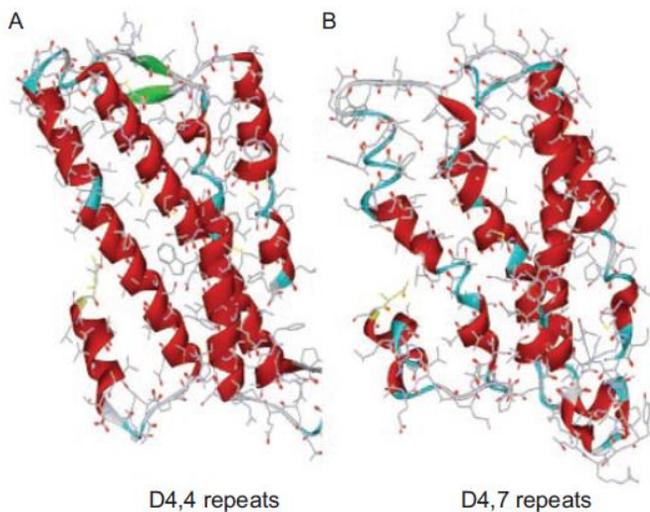


Fig 4 Estructura proteica del receptor a dopamina tipo 4 A) de cuatro repeticiones B) de siete repeticiones. Obtenido de Woods et al., 2010.

veces (2R-11R; Fig 5). Adicionalmente, se ha descrito una variante rara constituida por una secuencia trunca que posee cuatro repeticiones de 48 pb más 18 pb extras (haplotipo 4.5R; Hattori et al., 2009). El alelo más frecuente a nivel mundial es el 4R con un 65% seguido por el 7R con 19% y el 2R con 9% (Chang et al., 1996; Fig 5). Existen importantes diferencias en la frecuencia de estos polimorfismos entre diferentes grupos de población.

Desde Van Tol (1992) ya se había descrito que las secuencias de 48 pb podían variar discretamente en la secuencia de nucleótidos de las mismas, es decir son imperfectas cuando se comparan *vis-a-vis*. A estas variantes de las secuencias de 48 pb se les han denominado *motifs* y la unión de distintos *motifs* forma los haplotipos. Ello conlleva a que se incremente de manera importante la diversidad de esta región VNTR.

Por esta razón se comenzó a generar una forma alternativa de clasificar a los alelos y catalogarlos no sólo por el número de repetidos, sino por el tipo y orden de los *motifs* que los constituyen. Por ejemplo, el haplotipo denominado (1-2-3-4) de 4R fue el primero

en ser descrito², por lo que los *motifs* 1, 2, 3 y 4 que lo forman; para la variante del 2R el haplotipo más común es (1-4), lo que significa que comparte la secuencia inicial y final del 4R; para el de 7R es (1-2-6-5-2-5-4). Existe una gran diversidad de *motifs* (a la fecha más de 48), muchos de ellos poco frecuentes en las poblaciones. Algunos ejemplos de estos *motifs/haplotipos* serían: del 2R (30-4); del 4R (1-2-13-4) y el (1-2-14-4); 7R (1-2-6-5-2-5-19) y el (1-8-25-5-2-5-4) (Ding et al., 2002; Tovo-Rodrigues et al., 2013). Los *motifs* reportados al día de hoy se encuentran en la tabla suplementaria 1.

- Polimorfismo VNTR 48 bp del *DRD4* alrededor del mundo

Si bien los polimorfismos del *DRD4* comenzaron a ser de gran interés para la comunidad científica durante los años 1990s debido a su relación con el TDAH, la esquizofrenia, el rasgo de personalidad de búsqueda de novedad, la hiperactividad y la toma de riesgos, el primer paso para estudiar los polimorfismos del *DRD4* a nivel poblacional era conocer la distribución global del mismo. Por esta razón Chang et al., (1996) realizaron un estudio con 36 poblaciones alrededor del mundo reportando sus frecuencias alélicas. Los resultados

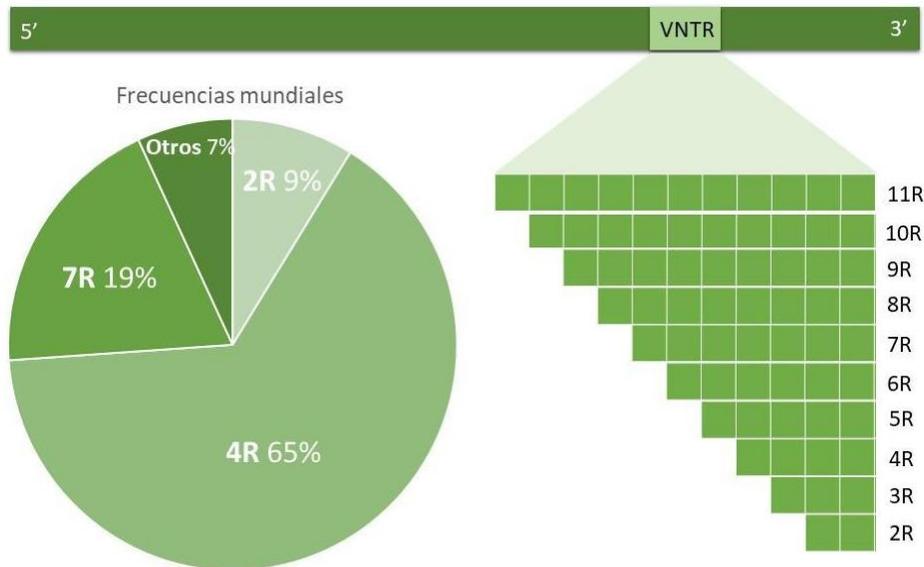


Fig 5 Polimorfismos del *DRD4* 2R-11R y sus frecuencias a nivel mundial según (Chang et al., 1996).

² Las secuencias han sido nombradas en orden numérico secuencial según se han descrito en la literatura

mostraron que aun cuando la frecuencia de 4R era la más común en prácticamente todos los continentes, en América se identificaba en algunas poblaciones una frecuencia incluso mayor del alelo 7R (48.3%) comparado con el 4R (43.8%), especialmente en aquellas poblaciones localizadas al sur del continente. Los otros continentes mostraron frecuencias de 4R (77.7%), 7R (13.3%) y 2R (1.7%) en África; de 4R (71.1%), 7R (11.7%) y 2R (7.8%) en Europa y medio este; de 4R (73.7%), 7R (1.9%) y 2R (18.1%) en Asia; y de 4R (60.8%), 7R (16.5%) y 2R (15.1%) en el Pacífico. Estos resultados mostraron una diferencia clara en la distribución de los alelos 2R (altos en Asia) y 7R (altos en América y muy bajos en Asia).

- La selección del *DRD4*

Un estudio publicado a finales de los años 1990s reportó que los alelos denominados “largos” (i.e. mayores a 5R) del *DRD4* se asociaban con la distancia recorrida por distintas poblaciones en: 1) micro migraciones, haciendo referencia a los hábitos que tienen ciertas comunidades de ser propensos al desplazamiento, ejemplo de esto son las poblaciones de cazadores-recolectores; y 2) las macro migraciones que describe grandes movimientos poblacionales que algunos grupos han tenido que hacer en su historia demográfica (Chen et al., 1999). Los autores propusieron que el *DRD4* podría estar siendo sometido a selección natural en las poblaciones con alelos largos donde el rasgo conductual de búsqueda de novedad, la hiperactividad y la toma de riesgos les impulsaba a tener un mayor desplazamiento y por el contrario la población con alelos cortos (i.e. 5 repetidos o menos) los hacía más sedentarios (Chen et al., 1999).

En el artículo de Chang et al., (1996) se menciona que el alelo de 4R estaba presente en todas las poblaciones analizadas en su trabajo y señalaba que la existencia de tantos alelos apuntaba a un fenómeno de selección por los heterocigotos 2R/7R y 4R/7R; sin embargo, la casi total ausencia del alelo de 7R en poblaciones asiáticas contradecía esta explicación. Con los trabajos de Ding et al., (2002) y Wang et al., (2004) se sugirió que el genotipo de 7R era de 5 a 10 veces más joven que el genotipo 4R, y la explicación más probable para el incremento en las frecuencias alélicas del 7R de hace 30,000 a 50,000 años era que el alelo estaba siendo sometido a selección de tipo diversificadora ventajosa para

el heterocigoto 4R/7R (Ding et al., 2002). Es importante mencionar que el surgimiento del *DRD4* 7R es contemporáneo al periodo en el cual se da la mayor expansión migratoria humana durante el Paleolítico superior, en el que se sitúa la salida de *H. sapiens* de África hace 55,000-65,000 años. Hace 45,000-55,000 años ya se encontraba en Eurasia y en Australia; en Siberia hace 45,000 años y en América hace 14,000 -15,000 años, aunque otros autores estiman ocurrió hace 23000 años, esto debido a un periodo en el cual las poblaciones humanas se mantuvieron en Beringia para posteriormente desplazarse dentro del continente americano (Nielsen et al., 2017). En los resultados obtenidos por Wang et al., (2004) al analizar el desequilibrio de ligamiento (LD) en la región VNTR comparado con las regiones adyacentes al tercer exón encontraron un alto LD en portadores del alelo de 7R/7R. Este resultado se ha interpretado como una evidencia de que el alelo de 7R debió originarse poco antes del éxodo humano de África, o bien surgir fuera de África y posteriormente una migración lo introdujo a este continente.

Ding et al., (2002) y Wang et al., (2004) proponen que el origen del alelo de 7R proviene de una serie de mutaciones y transversiones que posteriormente la selección natural fijó en las poblaciones hace aproximadamente 30,000 a 40,000 años. Hattori et al., (2009) mencionan que es posible que la deriva génica haya influido en el aumento del genotipo 7R/7R en distinta proporción alrededor del mundo y particularmente en América.

Por el contrario Kenneth Kidd et al., (2014) argumentaron que en la actualidad los estudios del genoma son tan amplios que se podrían hacer comparaciones entre las frecuencias alélicas del *DRD4* 7R alrededor del mundo con las frecuencias de cientos de SNPs que varían sólo por deriva génica y no por selección y coincidirían entre ellos, contradiciendo la idea de un proceso de selección. La verdadera pregunta es si el *DRD4* 7R fue sometido a selección y si lo fue, cómo.

Algunos arqueólogos cognitivos mencionan que hace aproximadamente 50,000 años los humanos mejoraron drásticamente sus habilidades motrices y de memoria desencadenando fenómenos tan complejos como el arte, el uso de herramientas más complejas, la tecnología de arco y flecha, y el lenguaje entre otros (Coolidge & Wynn, 2016). Todos estos cambios no pudieron ser posibles sin un cambio en la fisiología del cerebro producida por una serie de mutaciones en nuestro acervo genético (Bender, 2020; Coolidge & Wynn, 2016). Aquí es donde la teoría Gen-Cultura es relevante ya que en los últimos

50,000 años se ha reportado la selección de genes que han sido cruciales para el desarrollo cognitivo en los humanos como son, los genes FOXP2 (lenguaje), NOVA1 (*splicing* y metabolismo neuronal), SLITRK1 (regulación de sinapsis), LUZP1 (regula la migración celular), ARHGAP32 (regula la formación de espinas dendríticas), ADSL (metabolismo de purinas, se ha asociado con autismo), HTR2B (impulsividad) y CNTNAP2 (lenguaje y aprendizaje), generando cambios en la fisiología, en el comportamiento y en la forma del cerebro humano (Neubauer et al., 2018). Podría ser posible que al igual que estos genes el *DRD4* también jugara un papel importante modificando hábitos de vida y modelando comportamientos en las distintas culturas.

La evolución cultural o evolución gen-cultura argumenta que la diversidad biológica (y en particular la genética) es lo suficientemente relevante en las poblaciones humanas como para repercutir en las mismas, influyendo en lo que es *Homo sapiens* hoy en día. La herencia de los rasgos en la evolución cultural no ocurre de la misma forma que la evolución biológica, ya que en ésta el origen de la variación se da por las innovaciones que ocurren en las poblaciones en una época y lugar determinados, y a su vez deben ser beneficiosas al menos en apariencia para que sean apropiadas y transmitidas mediante el aprendizaje (Cavalli-Sforza, 2007). Algo particular de este tipo de herencia es que estos rasgos pueden heredarse verticalmente (de padres a hijos) u horizontalmente (entre individuos no emparentados) ya sea mediante la enseñanza o la imitación, además de esto pueden ser heredadas de forma lamarckiana (Gintis, 2007; Richerson & Boyd, 2012). Todas estas innovaciones provienen de la gran capacidad cognitiva que adquirió *H. sapiens* en los últimos 100,000 años. Esta capacidad de transmitir información está asociada con un grupo de mutaciones presentes en los humanos, pero no en otros primates (Bender, 2020). Por estas razones se sugiere que algunas mutaciones asociadas a la forma y al funcionamiento del cerebro de *H. sapiens* desencadenaron su modo de subsistir, interactuar y comportarse (Bender, 2020; Coolidge & Wynn, 2016; Lombard & Högberg, 2021). Así pues, el *H. sapiens* tiene dos fuentes importantes concatenadas y en interacción que determinan su comportamiento: el primero es la cultura; y la segunda su herencia biológica (Richerson & Boyd, 2012).

Un ejemplo clásico de un fenómeno donde la biología influye en el desarrollo de hábitos que adquieren las poblaciones es el del gen de la lactasa: se plantea que debido a

una escasez de comida en Oriente medio producida por el cambio climático hace 11,000 años, las poblaciones de esta zona cambiaron sus hábitos de consumo y comenzaron a alimentarse con la leche de animales que tenían disponibles. Esto fue posible debido al surgimiento de una mutación que permite que la lactasa, una enzima que degrada a la lactosa se mantenga activa durante toda la vida, y que en la mayoría de los individuos se encuentra activa sólo durante la infancia. Esta ventaja en la obtención de carbohidratos fue esencial para el crecimiento poblacional en Europa hace 6,000 años, influyendo en el desarrollo de las culturas ganaderas y de producción láctea. Como consecuencia de este fenómeno en la actualidad, países como Holanda y Suecia cuentan con casi el 100% de la población tolerante a la lactosa y además de esto en otras regiones como África Oriental se desarrolló esta misma tolerancia con resultados similares, pero generadas por otras mutaciones en el mismo gen (Cavalli-Sforza, 2007; Kim & Sasaki, 2014). Este ejemplo muestra cómo una, o una serie de mutaciones puede ser lo suficientemente relevante como para cambiar los hábitos de vida de todo un continente en unos milenios. Pero, ¿es posible que el *DRD4* influyera en la evolución cognitiva del humano modelando su comportamiento?.

Existen muchos ejemplos en donde algunos genotipos han sido asociados al comportamiento, ya sean rasgos de la personalidad o trastornos psiquiátricos. Los esfuerzos más grandes de asociar algunos polimorfismos se encuentran en un puñado de genes implicados principalmente a las vías dopaminérgicas y serotoninérgicas (Kim & Sasaki, 2014). Algunos ejemplos de esto podría ser los polimorfismos del promotor del gen transportador de serotonina *SLC6A4* con dos alelos; uno Largo (L) y uno corto (S), donde el polimorfismo corto se ha asociado con depresión y ansiedad (Lesch, 1996), pero además el gen se ha asociado con el individualismo y el comportamiento colectivo en las poblaciones siendo sometido a selección el polimorfismo (S) en poblaciones con tendencia a priorizar la cohesión grupal (Chiao & Blizinsky, 2010).

Otro ejemplo de esto es la región VNTR localizada en el promotor de la mono amino oxidasa A (MAO-A) en el cual el número de repetidos afecta tanto la cantidad de enzima, como la actividad de ésta. En este caso tener dos repetidos (2R) o tres repetido (3R) se asocia con una actividad baja en la MAO-A; mientras que poseer 3.5R, 4R o 5R con una alta actividad enzimática. La baja actividad de la MAO se ha asociado con conducta antisocial y

la agresión en algunas poblaciones (Beaver et al., 2013) y al igual que el *DRD4* su elevado desequilibrio de ligamiento sugiere que ha sido sometido a selección natural recientemente (Gilad et al., 2002).

El caso del *DRD4* es relevante ya que no sólo se ha asociado a trastornos psiquiátricos y adicciones, sino que también ha sido fuente de diversas teorías donde el polimorfismo de 7R pudo haber sido ventajoso para el humano durante distintos periodos de su historia y de diferentes maneras:

1. Es posible que en los primeros humanos se hayan seleccionado rasgos prosociales como la empatía, la vergüenza, el orgullo y la reciprocidad, desarrollándose fuertemente en las estructuras cerebrales de los humanos comparados con los de otros primates (Gintis, 2007). Esto no deja de ser paradójico debido a que la conducta prosocial y el altruismo no son fáciles de explicar por la evolución (en particular por selección natural; Jiang et al., 2013). La teoría más aceptada para explicar la conducta prosocial y el altruismo es la denominada en inglés *kin selection*, según la cual estos rasgos aseguran la descendencia mediante la supervivencia de los parientes cercanos, aunque esto no explica el comportamiento altruista del humano con otros no emparentados (Jiang et al., 2013). Podría ser que la capacidad del humano en confiar en otros fue uno de los factores que le permitieron la vida en comunidades tan grandes y complejas como las que tenemos en la actualidad (Jiang et al., 2013; Kitayama et al., 2014).

La mayoría de las investigaciones genéticas de conducta prosocial se enfocan en estudiar vías asociadas a hormonas como la oxitocina, dopamina y la serotonina debido a su importante asociación con la cooperación, la confianza, la comunicación positiva y la sensibilidad (Kim, 2014). En el caso de la dopamina, el *DRD4* ha sido de particular interés debido a la alta heredabilidad de la conducta prosocial (el porcentaje de la varianza explicada por la variabilidad genética es de alrededor del 50%) y a que se ha reportado una correlación del gen con la conducta prosocial (altruismo, empatía y asertividad; Rushton et al., 1986).

El *DRD4* se ha asociado con la conducta prosocial principalmente analizando los polimorfismos de la región VNTR enfocándose en los alelos largos >6R y los alelos cortos <6R o bien, a la presencia/ausencia de los polimorfismos 2R y 7R, en los cuales se ha reportado que el receptor que traduce el gen tiene menor actividad (Jiang et al., 2013). Se ha encontrado que los individuos que portaban el polimorfismo de 7R era menos altruistas que los que no lo portaban (Bachner-Melman et al., 2005), además se ha reportado una asociación del *DRD4* con el altruismo si es analizado en conjunto con factores ambientales y a los polimorfismos largos del *DRD4* con la agresividad (Jiang et al., 2013).

Kitayama et al., 2014 mostraron como el *DRD4* puede modular las influencias culturales. Compararon poblaciones con estilos de vida independientes de su familia como las encontradas en la población europea y de Estados Unidos con la población con estilos de vida más interdependientes y con identidad de grupo como lo es la población asiática. En los individuos con polimorfismos 2R y 7R parece ser que se exageran tanto el rasgo independiente, como interdependiente.

Otro ejemplo asociado con la conducta prosocial influenciada por el *DRD4* se dio en un estudio donde la población apegada a la religión tiene una mayor conducta prosocial si posee los polimorfismos 2R y 7R comparado con los no religiosos y con los que poseen otros polimorfismos del *DRD4* (Kim & Sasaki, 2014). Estos datos sugieren que el *DRD4* tiene una influencia importante en la forma en la cual los humanos interactúan en comunidad.

2. Un tema que se menciona con gran frecuencia en los artículos relacionados con el *DRD4* es su relación con la denominada “búsqueda de novedad”. Esta categoría conductual es usada en la psicología y psiquiatría para referirse a individuos con un rasgo de la personalidad que se caracteriza por tener una predilección por los estímulos novedosos, razón por la cual está altamente ligado con el sistema de recompensa del cerebro. Este rasgo por ejemplo parece predisponer al individuo al consumo de alcohol, de drogas,

desórdenes alimenticios; también se ha asociado con el deseo sexual, la infidelidad, la promiscuidad y realizar actividades extremas como esquiar (Halley et al., 2016; Weeland et al., 2015; Thomson et al., 2013). Debido a todas estas características y a su alta heredabilidad ligada a su genética (entre 30% y 40%) (Stallings et al., 1996), la búsqueda de novedad se ha ligado fuertemente a los polimorfismos del *DRD4*, reportándose evidencia en primates no humanos (*Cercopithecus aethiops*; Bailey et al., 2007), y en humanos (Ebstein et al., 1996; He et al., 2018), existiendo de igual forma controversias con esta asociación (Kluger et al., 2002)

Un trabajo longitudinal realizado por Laucht et al., (2006) con 232 niños reportó niveles bajos de atención en los varones (114) a los tres meses de edad, así como un mayor valor de búsqueda de novedad a los 15 años en individuos que portaban el polimorfismo de 7R del *DRD4*. De igual forma un trabajo con 118 hombres demostró que existía una asociación entre los alelos largos del *DRD4* con la búsqueda de novedad y en la toma de decisiones potencialmente peligrosas y dañinas (Roussos et al., 2009).

Es muy interesante observar la gran cantidad de asociaciones potencialmente negativas que se le asocian a los polimorfismos largos del *DRD4* y en particular el alelo de 7R. La pregunta interesante es saber cómo pudo incrementarse la frecuencia de 7R en Sudamérica si aparenta ser perjudicial para los individuos en la actualidad.

El estudio de 18 poblaciones indígenas de Sudamérica realizado (Tovo-Rodrigues et al., 2010) parece mostrar una asociación entre las poblaciones con frecuencias altas de 7R con estilos de vida o pasados recientes de ser cazadoras-recolectoras conectado con la búsqueda de novedad. Esto sugiere que las poblaciones cazadoras-recolectoras podrían usar la conducta exploratoria y la toma de riesgos como una adaptación a ese estilo de vida. Prueba de esto es que 7 de las 8 poblaciones con frecuencias más altas del polimorfismo de 7R son cazadoras recolectoras (Salzano, 2012; Tovo-Rodrigues et al., 2010).

Eisenberg et al., (2008) realizaron un estudio analizando a dos poblaciones del grupo arrial de la región Marsabit en Kenya. Estas poblaciones eran pastoriles. Una era recientemente sedentaria (87 hombres); y la otra era nómada (65 hombres). Los investigadores encontraron que los individuos con el polimorfismo 7R manifestaban mejores condiciones nutricionales (IMC y Grasa libre) si eran nómadas, y peor nutridos si eran sedentarios. Esto muestra que el alelo 7R pareciera aportar algún tipo de ventaja adaptativa en las poblaciones nómadas. El fenómeno migratorio en humanos es un evento muy complejo que es influenciado casi en su totalidad por factores sociales y culturales, la mayoría de estos generados principalmente por falta de recursos y los conflictos producidos entre las poblaciones. Estos eventos de desplazamiento generan consigo crecimientos poblacionales, la expansión de la cultura, la lengua e inevitablemente de los genes (Napierala et al., 2016).

Los flujos migratorios humanos fuera de África iniciaron entre 45,000 y 65,000 años, lo que ha generado variaciones en el acervo genético de las poblaciones humanas a lo largo del planeta debido a cuellos de botella y al efecto fundador (Henn et al., 2012). Estos fenómenos han favorecido cambios en la diversidad genética de todo el mundo y el poblamiento americano generado hace 15,000 años aproximadamente no parece ser la excepción, debido a que los pequeños grupos humanos que ingresaron al continente tienen una diversidad genética que se reduce al encontrado en los grupos que habitaban el este de Asia en ese momento (Henn et al., 2012; Nielsen et al., 2017).

Las principales conexiones que se han analizado entre la migración y el comportamiento son los rasgos de búsqueda de novedad y la sociabilidad así como también a las conductas exploratorias en los cuales el *DRD4* tiene un papel fundamental (Chen et al., 1999; Matthews & Butler, 2011; Napierala et al., 2016). Por esta razón, diversos autores han pensado que el *DRD4* 7R podría tener implicaciones ventajosas en sociedades

nómadas ya que esta conducta podría haber facilitado la obtención de recursos (Chen et al., 1999; Eisenberg et al., 2008; Chen et al., 1999).

En el trabajo de Chen et al., (1999) analizaron las frecuencias alélicas del gen *DRD4* obtenidas de 2320 individuos en 39 poblaciones alrededor del mundo y se compararon con la historia de micro y macro migraciones reportadas principalmente por trabajos de Cavalli-Sforza publicados en la última parte del siglo XX. Los resultados mostraron una asociación entre los alelos largos y las poblaciones migratorias. Matthews & Butler, (2011) llegaron a la conclusión de que existe una correlación entre los polimorfismos *DRD4* 2R y 7R con las distancias migratorias, pero aclaran que es posible que el resultado de estas frecuencias podría ser fruto de la deriva génica y los cuellos de botella producidos durante la historia de las migraciones humanas.

Un trabajo de heredabilidad del comportamiento migratorio realizado con población mexicana que emigró a los Estados Unidos encontró que los factores ambientales eran el principal determinante en la migración de población joven, con una mayor correlación en hombres; y por otro lado la predisposición genética tenía un peso importante en poblaciones adultas y en particular una mayor influencia en mujeres. Una explicación para el factor hereditario del fenómeno es la selección de los rasgos del comportamiento, donde la población migrante debe sobrellevar el riesgo, la incertidumbre y tener el valor de iniciar una vida nueva en un ambiente completamente nuevo y todos estos rasgos se asocian con el polimorfismo 7R del *DRD4* (Napierala et al., 2016).

- Polimorfismos del *DRD4* en los pueblos originarios de América

Las diferencias en las frecuencias alélicas del *DRD4* generaron interés en la comunidad científica sobre todo en América, donde el alelo de 7R es más frecuente comparado con otros continentes, y donde además éste se asociaba a distintos trastornos y rasgos de la personalidad. Las poblaciones originarias del continente americano analizadas por Chang et al., (1996) pueden dar una mejor idea de cómo eran las frecuencias del *DRD4* antes de la colonización en comparación con las poblaciones urbanas que tienen una mayor probabilidad de poseer polimorfismos del *DRD4* provenientes de otras regiones del mundo principalmente Europa dada su historia demográfica.

Las primeras poblaciones americanas analizadas en sus frecuencias alélicas del *DRD4* fueron la población muskoke, el pueblo jemez, pima y maya del norte de América, así como los quechua, karitiana, surui y ticuna de Sudamérica (Chang et al., 1996). Posteriormente, Tovo-Rodrigues et al., (2010) analizaron la variación en 23 poblaciones indígenas americanas. Las frecuencias en América parecían tener el mismo comportamiento que propuso Chan et al., (1996), es decir una mayor frecuencia de 7R en Sudamérica, con la particularidad de mostrar una mayor regionalización de este polimorfismo en la región del Amazonas, principalmente en las poblaciones cazadoras-recolectoras con la excepción de la población ticuna que es agricultora Fig 6. De igual forma se encontró en la región del Amazonas un *motif* que parece ser endémico de la zona el 7R (1-2-6-5-2-5-19), (Tovo-Rodrigues et al., 2010).

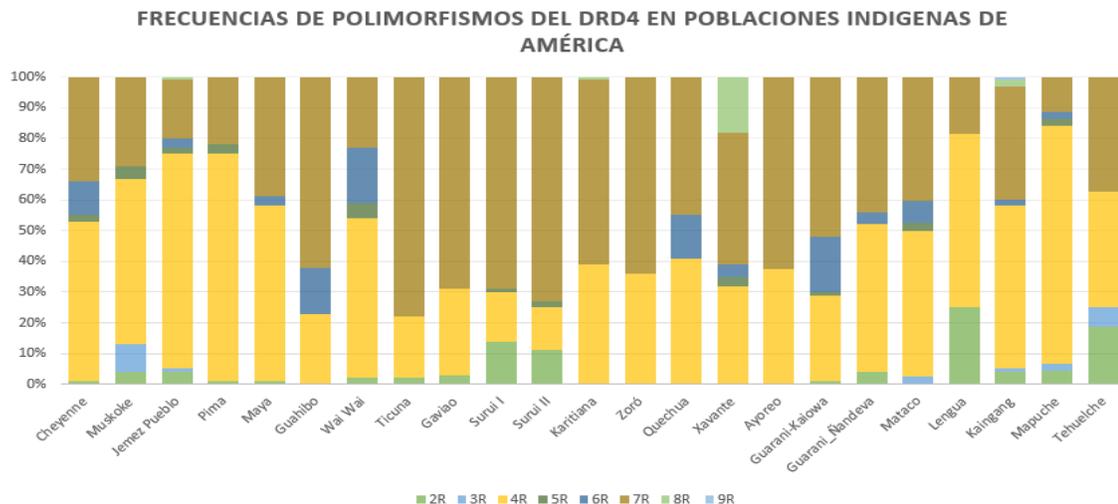


Fig 6 Frecuencias de polimorfismos del *DRD4* en poblaciones indígenas de América. las poblaciones están organizadas en relación con su posición geográfica de norte a sur. Las primeras cinco poblaciones pertenecen a poblaciones localizadas en Norteamérica, las restantes a Sudamérica. Datos obtenidos de (Tovo-Rodrigues, et al., 2010).

- Polimorfismos del *DRD4* en la población indígena de México.

Los muestreos de la variación del *DRD4* estuvieron principalmente enfocados en las ciudades debido a su relevancia en la psiquiatría. Se comenzaron a realizar estudios de asociación entre el *DRD4* con distintos trastornos psiquiátricos donde las muestras de control nos pueden dar una idea de cómo son las frecuencias en este país. El caso de la Ciudad de México muestra una frecuencia del 4R (58.3%) y 7R (35.1%) con n= 84 individuos según Gabriela et al., (2009); de 4R (60%) y 7R (29%) con n= 127 individuos según (Aguirre Samudio et al., 2007); Aguirre-Samudio et al., (2014) reportan 4R (59.8%) y 7R (29%) con n= 169 individuos; mientras que Camarena et al., (2007) reportan frecuencias de 4R (62%) y 7R (26%) con n=202 individuos. Otra ciudad con frecuencias del *DRD4* descritas es Guadalajara con 4R (60%) y 7R (27%) con n= 30 individuos en pacientes con TDAH pero este trabajo no cuenta con controles (Trejo & Matute, 2015).

Con estos resultados se puede ver que los individuos muestreados de estas dos ciudades de México poseen frecuencias muy similares de los polimorfismos más frecuentes del *DRD4* con una predominancia del 4R, pero ¿Estas frecuencias se repetirán en poblaciones indígenas de México? Hasta 2014 la única población indígena en México de la cual se conocía su frecuencia alélica del *DRD4* era la población maya presentando frecuencias de 2R (1%), 4R (57%) y 7R (39%) con un tamaño de muestra de 50 individuos (Chang et al., 1996). Aguirre-Samudio et al., (2014) realizaron el primer estudio con el fin de describir el *DRD4* en otras poblaciones indígenas analizando a dos poblaciones más, tarahumaras de Chihuahua que presentaron una frecuencia del alelo de 4R de 70.7% y la población mixe de Oaxaca que mostró la frecuencia más alta del alelo 7R (42.5%). Estos resultados sugieren: a) que las frecuencias en las poblaciones indígenas difieren de las encontradas en la Ciudad de México y Guadalajara; b) que las poblaciones indígenas del norte del país poseen frecuencias de 7R más bajas; c) que el sur del país parecen tener una frecuencia mayor de 7R; y d) que a partir del eje neovolcánico transversal hacia el sur comienzan a incrementar las frecuencias alélicas de 7R tomando en cuenta las de otras poblaciones indígenas de América (Aguirre-Samudio et al., 2014; Tovo-Rodrigues et al., 2010).

- La diversidad genética de México

La presencia del humano en el territorio de lo que hoy es México es un tema que ha sido muy debatido durante los últimos años debido principalmente a la poca cantidad de restos humanos datados en la zona. Lo que se puede inferir es que el poblamiento del territorio debe estar delimitado entre la llegada del humano a América hace 15,000 años aproximadamente, y el sitio de Monte Verde en Chile datado hace 12,500 años ya que para ser poblada la zona sur del continente es inevitable el paso por México (González et al., 2006).

Los restos más antiguos encontrados datados en México pertenecen a dos cráneos. Uno de hace 10,700 años aproximadamente perteneciente a la Mujer del Peñón III y el otro de hace 10,200 perteneciente al hombre de Tlapacoya I (González et al., 2006). Estos individuos eran cazadores recolectores y se distribuían en un gran número de ambientes como franjas costeras, bosques tropicales además de zonas abiertas donde se les facilitaba la cacería (Gnecco, 2006).

El desarrollo de la agricultura desencadenó el paulatino cambio en la forma de vida de los humanos, haciendo más efectiva la producción de recursos con la agricultura, y el surgimiento de restricciones culturales, principalmente territoriales, generando así necesidad de crear alianzas regionales producto de los nuevos hábitos sedentarios (Gnecco, 2006). Esto hizo de la agricultura un eje central en Mesoamérica modificando las creencias y modo de vida de los habitantes de la zona. Algunas evidencias de la agricultura en Mesoamérica son la presencia de carbón en el suelo producto de incendios provocados previos al cultivo hace 7000 años. En estas fechas se tiene registro arqueobotánico de domesticación de la calabaza, pero la presencia de agricultura se puede remontar a hace 9,000 años o más (Zizumbo et al., 2008).

Con el paso de los años, la historia demográfica de México se ha visto influenciada fuertemente por los desplazamientos y asentamientos humanos a lo largo de todo el territorio, encontrando rutas y caminos que van desde el sur de Estados Unidos hasta el

valle de México. Hacia el sur del valle de México fueron mucho más comunes las rutas y con un mayor flujo poblacional (González Sobrino, 2016).

Para el periodo colonial la estructura genética de la población de la región Nueva España sufrió cambios muy drásticos debido a diversos factores. El primero de ellos fueron las epidemias que sufrieron las poblaciones indígenas que trajeron consigo los españoles durante la conquista. La primera de ellas fue la viruela entre 1518 y 1520 con ocho millones de muertos, la segunda en 1545 donde las epidemias generadas por el *cocoliztli* (traducido como enfermedad o pestilencia) que fue una enfermedad hasta ahora desconocida con una gran cantidad de síntomas (posiblemente fiebre hemorrágica y salmonella) que dejó un saldo de entre siete y 15 millones de muertos y en 1575 dejando dos millones de muertos. En otras palabras, en los 60 años entre 1520 y 1580 se calcula que murió más del 80% de la población indígena presente en México (Acuña-Soto et al., 2002). La segunda razón fue la mezcla producida por el flujo génico proveniente de Europa y de los esclavos africanos con la población indígena. La tercera razón fueron los flujos migratorios internos durante la primera mitad del siglo XVII donde gran parte de la población se asentó en concentraciones urbanas y en villas a los alrededores de las minas de plata. Por esta razón, el periodo colonial es crucial para entender el componente genético de las poblaciones que habitan en México en la actualidad (González Sobrino., 2016).

Si bien el mestizaje sucedió en gran parte del territorio, cada región del país posee en la actualidad su propia historia demográfica. La evidencia de estas diferencias es la presencia de los haplogrupos mitocondriales y del cromosoma Y que no son endémicos de América y se localizan a lo largo del continente en distintas frecuencias (González Sobrino 2016).

González-Sobrino et al., (2016) encontraron una clara subestructura entre las distintas poblaciones que habitan el país analizando los linajes mitocondriales y del cromosoma Y en poblaciones indígenas y de distintas ciudades de México. Esta subestructura poblacional producida por su geografía y por su historia parece tener un patrón de distribución en norte (tarahumara, tepehuana, cora y huichol), centro (otomí) y sur (zapoteco, mixe, mixteco y maya). También es importante mencionar que a diferencia del mtDNA, el cromosoma Y presenta una mayor cantidad de linajes no indígenas a partir de la conquista.

Esta subestructura en México también fue descrita por (Moreno-Estrada et al., 2014) donde se analizaron cerca de 1 millón de SNPs en 511 individuos pertenecientes a 20 pueblos indígenas, donde subdividen a las poblaciones en seis grupos (uno al noroeste (seri), norte (tarahumara, tepehuan y huichol), sur (purépechas, nahuas, totonacos, mazatecos, triquis y zapotecos), así como los grupos tojolabal, el lacandón y el maya.

Justificación.

En esta tesis se plantea la relevancia que tiene el *DRD4* y sus polimorfismos en la psiquiatría y en el comportamiento a través de los procesos fisiológicos en los que está implicada la proteína que traduce este gen. Además, muestro la fuerte implicación que tienen ciertos polimorfismos (principalmente el *DRD4 7R*) en algunos trastornos psiquiátricos y rasgos conductuales.

Estos factores unidos con la gran heterogeneidad en las frecuencias alélicas encontrada alrededor del mundo fueron de gran relevancia para que otras disciplinas como la antropología y la biología evolutiva se interesaran en evaluar este gen como un candidato sometido a selección en los humanos. Esto llevó a los investigadores a generar hipótesis en torno al *DRD4 7R* y su posible selección positiva principalmente en población cazadora-recolectora localizada en Sudamérica (surui, gaviao, zoró, ayoreo, karitiana y guahibo) debido a su frecuencia alélica alta y su origen reciente (hace 30,000 años aproximadamente).

El *DRD4 7R* parece estar fuertemente implicado en rasgos del comportamiento que pudieron favorecer la supervivencia de *Homo sapiens* antes de tornarse sedentario por lo cual algunos autores lo catalogan como un gen relevante para el estudio de la coevolución gen-cultura. Se conoce la distribución de los alelos del *DRD4* en algunas poblaciones de Sudamérica y en pocas ciudades de México, pero el estudio de este gen en las poblaciones indígenas de México se ha reducido a sólo tres pueblos. Por esta razón en este trabajo se describe la variación de alelos y genotipos del VNTR en el exón 3 del gen *DRD4* en 11 poblaciones indígenas de México y se analizan los patrones de su diversidad, diferenciación y distribución geográfica con especial referencia al estudio previo de Aguirre-Samudio et al., (2014).

Objetivos

- Objetivo general

Conocer la distribución de los polimorfismos del VNTR del exón 3 del gen *DRD4* en once poblaciones indígenas de México.

- Objetivos particulares

- Describir las frecuencias alélicas y genotípicas del VNTR del exón 3 del gen *DRD4* en once poblaciones indígenas: yaqui, tarahumara, tepehuana, huastecos, cora, huichol, purépecha, mixteca, mixe, zapoteca y maya distribuidas a lo largo del país.
- Evaluar la existencia de una sub-estructura poblacional en México relacionada con el polimorfismo del VNTR del exón 3 del gen *DRD4*.
- Confirmar si existe el patrón de distribución espacial del alelo 7R en el gen *DRD4* reportado por Aguirre-Samudio et al., (2014).

Antecedentes

1. Estudio de Polimorfismos del DRD4 en poblaciones alrededor del mundo de Chang et al., (1996)
2. Estudio de diversidad alélica del DRD4 en América publicado por Tovo-Rodriges et al., (2010).
3. Estudio del DRD4 en población indígena Mexicana publicada por Aguirre-Samudio et al., (2014).

Metodología

- Sujetos

Las muestras analizadas en este proyecto pertenecen a 627 individuos hablantes de lenguas indígenas los cuales pertenecen a 11 estados de la República Mexicana. La mayoría de las muestras aquí utilizadas ya han sido analizadas para otras regiones genómicas reportadas por Muñoz-Gerardo, (2021), González-Sobrino, (2016) y González-Sobrino et al., (2016) con excepción de las muestras pertenecientes a la población purépecha, las cuales fueron obtenidas en 2019 (tabla1).

Cada persona muestreada dio su aprobación voluntaria a participar en este proyecto de forma documentada. La documentación incluye la aprobación del Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM, así como una carta de consentimiento informado en español y en la lengua indígena correspondiente a cada grupo con firma o huella digital de cada participante. Las muestras pertenecen al Laboratorio de Antropología Genética del Instituto de Investigaciones Antropológicas y el muestreo fue realizado bajo la supervisión de la Dra. Blanca Zoila González Sobrino.

Los grupos de estudio se definieron en relación con la lengua que se habla y la región que se habita. En cada sitio los criterios de inclusión fueron individuos de ambos sexos mayores de 18 años, no emparentados entre sí, hablantes de su respectiva lengua indígena, cuyos padres y abuelos nacieron en el mismo lugar que el voluntario. La localización y el número de muestras colectadas se muestran en la tabla 1.

Tabla. 1 Poblaciones incluidas en este proyecto; los grupos a los cuales fueron considerados para el análisis de AMOVA; los sitios de muestreo; la lengua que habla la población; y el número de individuos.

<i>Poblaciones</i>	<i>Grupos</i>	<i>Localización</i>	<i>Lengua</i>	<i>N</i>
<i>Yaqui (Yaq)</i>	1	Sonora <ul style="list-style-type: none"> ● Belem ● Ciudad Obregón ● Hermosillo ● Loma de Guamuchil ● Pótam ● Vícam 	Yaqui	39
<i>Tarahumara (Tar)</i>	1	Chihuahua <ul style="list-style-type: none"> ● Balleza ● Batopilas ● Bocoyna ● Gorogachi ● Guachochi ● Maguarichi ● Morelos ● Turuachi 	Rarámuri	56
<i>Tepehuanes del sur (Tep)</i>	1	Nayarit <ul style="list-style-type: none"> ● La Muralita Huajicori 	Ódami	57
<i>Cora (Cor)</i>	2	Nayarit <ul style="list-style-type: none"> ● Huertitas 	Naayeri	40
<i>Huichola (Hui)</i>	2	Nayarit <ul style="list-style-type: none"> ● Colorado de la Mora 	Wixárika	63
<i>Huasteca(Hua)</i>	3	San Luis Potosí <ul style="list-style-type: none"> ● Aquismón ● Chinampa de Gorostiza ● Huehuetlán ● Las Lomas ● San Vicente Tancuayalab ● Tamuín ● Tampamolón Corona ● Tancanhuitz ● Tanlajás ● Tanquilian de Escobedo ● Xilitla Veracruz <ul style="list-style-type: none"> ● Tantoyuca ● Tancoco ● Chontla 	Huasteco	26
<i>Purépecha (Pur)</i>	4	Michoacán <ul style="list-style-type: none"> ● Carapan ● Ichan 	Purépecha	37
<i>Mixteca (Mix)</i>	5	Oaxaca <ul style="list-style-type: none"> ● Mixteca alta ● Mixteca baja 	Ñuu Savi	72

<i>Mixe (Mes)</i>	5	Oaxaca <ul style="list-style-type: none"> ● Cuatro Palo Tamazulapan ● San Cristobal Chichicaxtepec ● San Francisco Jayacaxtepec ● San Miguel Aloapan ● Santa María Mixistlán ● Santa María Tepantlali ● Santa María Tiltepec ● Santa María Thahuitoltepec ● Santa María Yacochi ● Santo Domingo Tepuxtepec ● San Pedro San Pablo Ayutla 	Ayüük	37
<i>Zapoteca (Zap)</i>	5		Bene Xon	66
<i>Maya (May)</i>	6	Campeche <ul style="list-style-type: none"> ● Campeche ● Escárcega Tabasco <ul style="list-style-type: none"> ● Comalcalco ● Tenosique Quintana Roo <ul style="list-style-type: none"> ● Cancún ● Chihuahub ● Felipe Carrillo Puerto ● José María Morelos ● Playa del Carmen ● Tres Reyes Yucatán <ul style="list-style-type: none"> ● Chacsinkin ● Chimax ● Halacho ● Mérida ● Peto ● Popolna ● Sisbicchen ● Temoson ● Tsucacab ● Tzinub ● Valladolid ● Villa Guadalupe ● Xcan ● Yalcobá 	Maya	134
<i>Total</i>				627

- **Análisis molecular**

La donación de material genético provino de muestras de saliva de las cuales se obtuvo DNA por medio del Kit Oragene DNA Saliva Kit (DNA Genotek). A las muestras de DNA obtenidas se les evaluó la calidad y la pureza por espectrofotometría en un espectrofotómetro NanoDrop 2000. En las pocas muestras en las que no se logró un amplificado de PCR, se extrajo DNA por el método de fenol-cloroformo-alcohol isoamilico.

La amplificación de PCR del tercer exón de la región VNTR del *DRD4* se realizó en un termociclador Axygen Maxygene II, a un volumen de 25 µL con 100 ng de material

genómico. Se utilizaron los oligonucleótidos reportados por (Lichter et al., 1993) 5'GCGACTACGTGGTCTACTCG 3' y 5'AGGACCCTCATGGCCTTG 3' a una temperatura de alineamiento de 60 °C y se utilizó el kit KAPA 2GRobust para la reacción de amplificado.

La determinación de los alelos de cada muestra se realizó mediante una separación por electroforesis del producto amplificado en geles de agarosa Metaphor al 1.5%. El tamaño de las bandas amplificadas se comparó con un marcador de tamaño molecular de fragmentos de 100 pb (DNA 100 bp ladder, Axygen) y con otras bandas de muestras homocigotas previamente amplificadas y secuenciadas en experimentos previos. El tamaño de los alelos se determinó basándose en el tamaño de los amplificados (4R 492 pb, 7R 636 pb y 2R 396 pb) obtenidos por (Lichter et al., 1993). A continuación, se muestra un ejemplo de algunos genotipos obtenidos durante esta tesis Fig7.

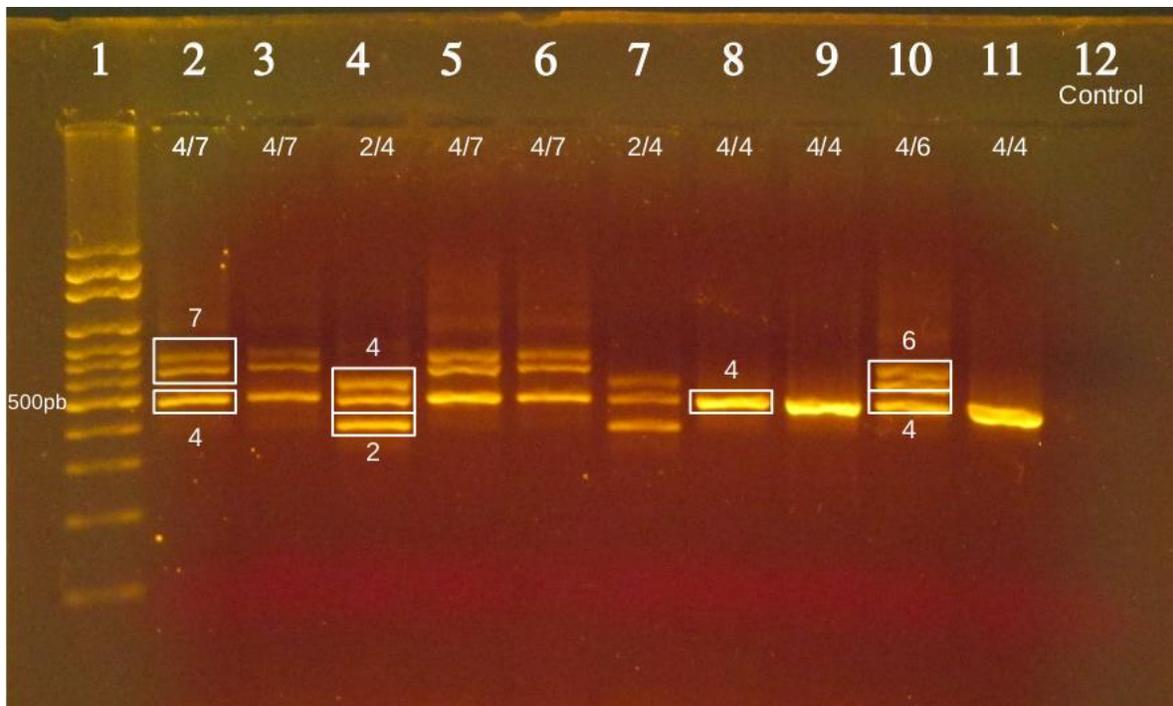


Fig 7. Electroforesis en gel de agarosa Metaphor al 3% del amplificado por PCR de la región VNTR del DRD4 de diez individuos (2-11). La imagen muestra algunos genotipos obtenidos durante la tesis. El carril 1) muestra el marcador de tamaño molecular; 2) muestra el genotipo 4R/7R; el 3) 4R/7R; el 4) 2R/4R; el 5) 4R/7R; el 6) 4R/7R; el 7) 2R/4R; el 8 y 9) son homocigotos para 4R/4R; el 10) 4R/6R; el 11) es 4R/4R y el 12) es el control negativo que contiene los reactivos para realizar la reacción de PCR sin DNA para corroborar que no hay contaminación de algún DNA ajeno a las muestras.

- Análisis de datos

Diversidad genética

Se obtuvieron las frecuencias alélicas y genotípicas de cada población. La heterocigocidad H_e y la heterocigosis observada H_o .

La Heterocigosis esperada se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

Donde p_i es la frecuencia de cada alelo y k el número de alelos

Se obtuvo también el coeficiente de endogamia calculado como:

$$f = 1 - (H_o / H_e)$$

Donde H_o es la heterocigosis observada; H_e es la heterocigosis esperada, es decir la frecuencia esperada de heterocigotos en Hardy-Weinberg.

La prueba exacta del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) se analizó con el programa ARLEQUIN 3.5.1.2

Para estimar la diferenciación genética se estimaron los valores de F_{ST} para cada combinación de pares de poblaciones utilizando ARLEQUIN 3.5.1.2. Se realizó también un análisis de varianza molecular (AMOVA) para estimar la variedad entre los grupos, entre las poblaciones dentro de los grupos y entre individuos dentro de las poblaciones. Los grupos utilizados en el análisis de AMOVA se armaron basándose en la distribución de los haplogrupos mitocondriales y de cromosoma Y reportados por González-Sobrino, (2016), González Sobrino et al., (2016), Muñoz-Gerardo, (2021), datos aun no publicados de algunas poblaciones analizadas de esta tesis, la distribución geográfica y la historia demográfica de las poblaciones indígenas. Los subgrupos se definen en la columna llamada *Grupos* en la tabla 1.

Con los valores de FST obtenidos se realizó una matriz en un mapa de frecuencias, así como un dendrograma de similitud entre las poblaciones. Se realizó también análisis de componentes principales (PCA) utilizando las varianzas de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del *DRD4* de las poblaciones indígenas analizadas, así como un PCA específico para la población Maya sub dividiéndola en estados (Campeche, Yucatán y Quintana Roo) con el fin de encontrar posibles estructuras entre las poblaciones. Los mapas presentes en este trabajo se realizaron con QGIS 3.22.0 basados en los datos de frecuencias alélicas obtenidas en este trabajo (mapa de México) y con las publicadas por Tovo-Rodrigues et al., (2010) en el caso del mapa de América.

Resultados.

Las frecuencias de los alelos del gen *DRD4* en las poblaciones indígenas de México difieren de las encontradas en las ciudades de México. Las frecuencias encontradas en ciertas poblaciones parecen tener relación con su posición geográfica. Las poblaciones localizadas más al norte del país presentan las frecuencias más altas del polimorfismo del *DRD4* 4R con un 74.4% en la población yaqui y de 78.6% en la población tarahumara. Estas dos poblaciones presentan las frecuencias más bajas del polimorfismo de 7R con 11.5% en los yaquis y 15.2% en los tarahumaras (ver Tabla 2 y Fig 8).

Los tepehuanes sorprendentemente mostraron las frecuencias más altas del polimorfismo de 7R del norte del país con un 46.5%, siendo aún mayor que el polimorfismo de 4R que fue de 42.1%. Del lado del Golfo de México, los huastecos mostraron una frecuencia alélica del polimorfismo de 7R de 34.6% y de 4R del 48.1%. Es importante mencionar que esta población mostró la frecuencia más alta del polimorfismo de 6R siendo del 13% que sumado a la otra frecuencia de “alelos largos” que es el 7R prácticamente igualan a la frecuencia de 4R (Tabla 2 y Fig 8).

Como era de esperarse las frecuencias de las poblaciones coras y huicholes fueron las más similares encontradas en este trabajo, con una frecuencia de 31.3% en coras y 31.7% para huicholes en el polimorfismo de 7R, y de 62.5% y 65.1% para el polimorfismo de 2R respectivamente, estos resultados se se pueden ver más claramente con el valor de FST (<0.001); ver Tabla 2 y Fig 8).

Las poblaciones localizadas principalmente en Oaxaca fueron las que presentaron las frecuencias más altas del polimorfismo de 7R junto con los huastecos. Los zapotecos con 53.8% la mayor frecuencia de 7R y 42.4% de 4R; los mixes con una frecuencia de 37.8% en del alelo de 7R y de 54.1% de 4R; y mixtecos con una frecuencia de 7R de 46.5%, y una de 45.1% en 4R (ver Tabla 2 y Fig 8).

Población	2R	3R	4R	5R	6R	7R	8R	Ho	He	f	Valor de P EHW	No. de Cromosomas
Yaqui	0.064	0.013	0.744	0.038	0.026	0.115	0.000	0.462	0.430	-0.073	0.837	78
Tarahumara	0.009	0.009	0.786	0.018	0.027	0.152	0.000	0.321	0.360	0.107	*0.005	112
Tepehuan	0.035	0.000	0.421	0.000	0.079	0.465	0.000	0.368	0.602	0.388	0.604	114
Huasteca	0.019	0.000	0.481	0.019	0.135	0.346	0.000	0.731	0.636	-0.148	0.554	52
Cora	0.013	0.000	0.625	0.025	0.025	0.313	0.000	0.500	0.514	0.026	0.085	80
Huichol	0.000	0.000	0.651	0.000	0.032	0.317	0.000	0.508	0.477	-0.066	0.481	126
Purépecha	0.014	0.000	0.541	0.054	0.081	0.311	0.000	0.595	0.606	0.018	0.118	74
Mixteca	0.007	0.000	0.451	0.021	0.056	0.465	0.000	0.569	0.578	0.015	0.898	144
Mixe	0.000	0.014	0.541	0.014	0.041	0.378	0.014	0.568	0.566	-0.002	0.5378	74
Zapoteca	0.000	0.000	0.424	0.008	0.030	0.538	0.000	0.591	0.532	-0.111	0.1087	132
Maya	0.015	0.000	0.724	0.004	0.011	0.246	0.000	0.313	0.416	0.246	*0.0170	268

Tabla 2. Frecuencias alélicas encontradas en las distintas poblaciones indígenas; Heterocigosis observada (Ho); la Heterocigosis esperada (He); el coeficiente de endogamia (f); y el valor de P del equilibrio del equilibrio Hardy-Weingerg; * representa poblaciones que no están en EHW.

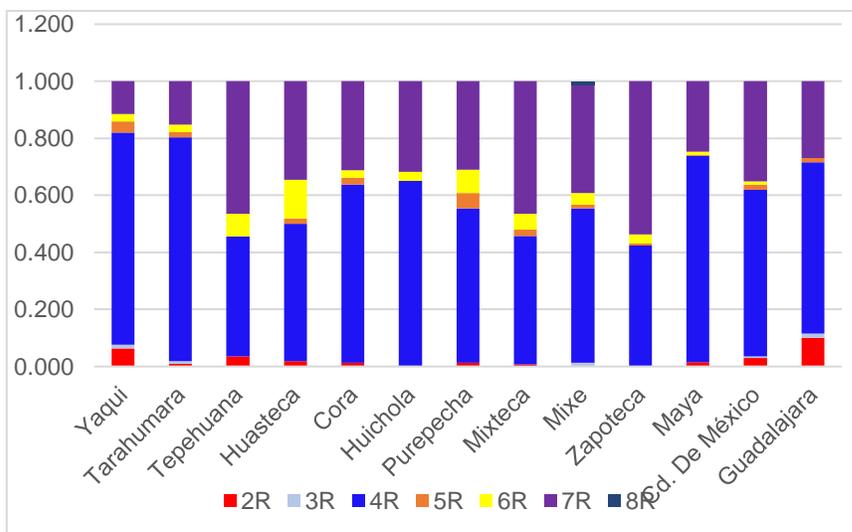


Fig 8 Frecuencias alélicas de los polimorfismos del DRD4 en poblaciones indígenas de México. Las poblaciones están ordenadas por su distribución de norte a sur con excepción de la población huasteca, cora y huichol donde los muestreos se dieron a latitudes similares (ver Fig 9); y las últimas dos barras representan las frecuencias de las únicas dos ciudades donde se ha reportado las frecuencias alélicas de México reportadas por (Gabriela et al., 2009 y Trejo & Matute, 2015).

Finalmente, la población maya, la única estudiada en la península de Yucatán, presentó una frecuencia relativamente baja del polimorfismo de 7R con 34.6% y una frecuencia de 4R que solo se compara con las poblaciones indígenas del norte del país con un 72.4%. Es importante mencionar que en todas las poblaciones estudiadas el polimorfismo 2R fue inferior al 2% con excepción de la población yaqui (6.4%) y los tepehuanes (3.5%), pero las poblaciones de las ciudades estudiadas previamente han mostrado tener un mayor componente del polimorfismo de 2R (Gabriela et al., 2009 y Trejo & Matute, 2015). De las poblaciones indígenas estudiadas de Oaxaca el polimorfismo de 2R prácticamente no se encontró más que en los mixtecos (0.7%). La gráfica 8 muestra la distribución de las frecuencias alélicas en un gradiente de norte a sur, por lo que se puede observar un aumento en las frecuencias de alelos largos del (*DRD4* 6R y 7R) de la zona del Gran Nayar observada principalmente por la población tepehuana (54.4%), este incremento es menor en la población cora y huichol, pero no disminuye de 32.8% en ninguna otra población, hasta la población maya (25.7%). El mapa (Fig 9) muestra la distribución de las frecuencias alélicas de cada población y su localización en México.

Los valores de heterocigosis observada más altos se encontraron en la población huasteca ($H_o=0.73$) esto debido a la gran cantidad de genotipos (4R/7R) presentes en la población. Por otra parte, los valores más bajos de H_o los presentaron los tarahumaras ($H_o=0.32$) y los mayas ($H_o=0.31$), esta presencia baja de heterocigotos también se ve reflejado en el coeficiente de endogamia f donde ambos presentan valores superiores a 0.1 (ver Fig 10 y tabla 3).

Frecuencias alélicas del DRD4 en distintas poblaciones indígenas de México

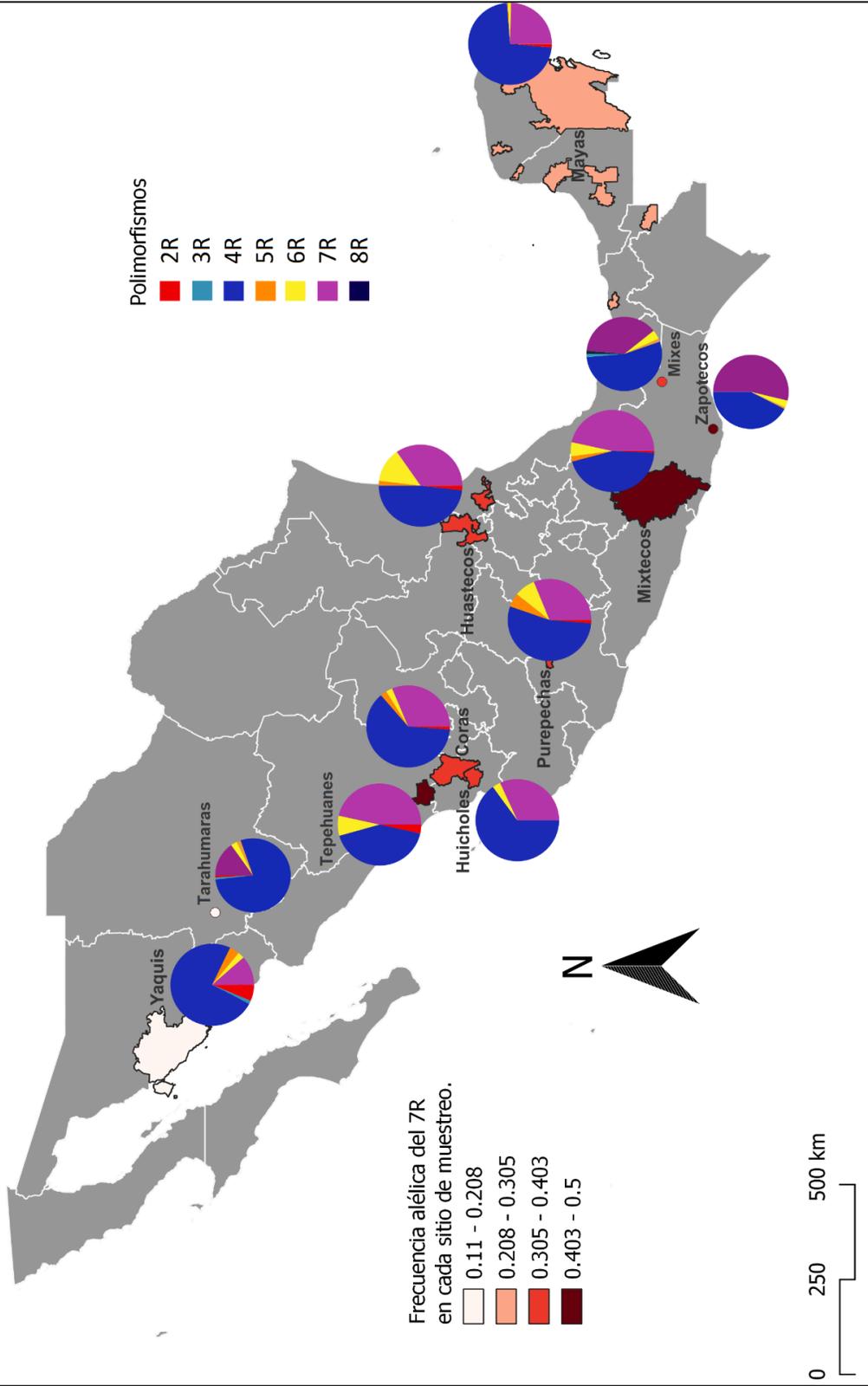


Fig 9. Mapa que muestra las frecuencias alélicas de los polimorfismos del DRD4 en 11 poblaciones indígenas de México. Las áreas en colores representan las frecuencias de 7R y las zonas de distribución de las poblaciones.

Tabla 3. Tabla que muestra las frecuencias genotípicas encontradas de los polimorfismos del DRD4 en poblaciones indígenas de México.

Población	2R/4R	2R/5R	2R/6R	2R/7R	3R/4R	3R/5R	3R/7R	4R/4R	4R/5R	4R/6R	4R/7R	4R/8R	5R/5R	5R/7R	6R/6R	6R/7R	7R/7R
Yaqui	0.103	0	0	0.026	0.026	0	0	0.538	0.051	0.051	0.179	0	0	0.026	0	0	0
Tarahumara	0	0.018	0	0	0	0.018	0	0.643	0	0.054	0.232	0	0	0	0	0	0.036
Tepehuan	0.053	0	0.018	0	0	0	0	0.281	0	0.07	0.158	0	0	0	0	0.07	0.351
Huasteca	0.038	0	0	0	0	0	0	0.154	0.038	0.115	0.462	0	0	0	0.038	0.077	0.077
Cora	0.025	0	0	0	0	0	0	0.375	0	0.05	0.425	0	0.025	0	0	0	0.1
Huichol	0	0	0	0	0	0	0	0.397	0	0.063	0.444	0	0	0	0	0	0.095
Purépecha	0.027	0	0	0	0	0	0	0.351	0.027	0.027	0.297	0	0	0.081	0	0.135	0.054
Mixteca	0	0	0	0.014	0	0	0	0.222	0.014	0.042	0.403	0	0	0.028	0	0.069	0.208
Mixe	0	0	0	0	0	0	0.027	0.27	0.027	0.081	0.405	0.027	0	0	0	0	0.162
Zapoteca	0	0	0	0	0	0	0	0.136	0	0.061	0.515	0	0	0.015	0	0	0.273
Maya	0.03	0	0	0	0	0	0	0.567	0.007	0.022	0.254	0	0	0	0	0	0.119

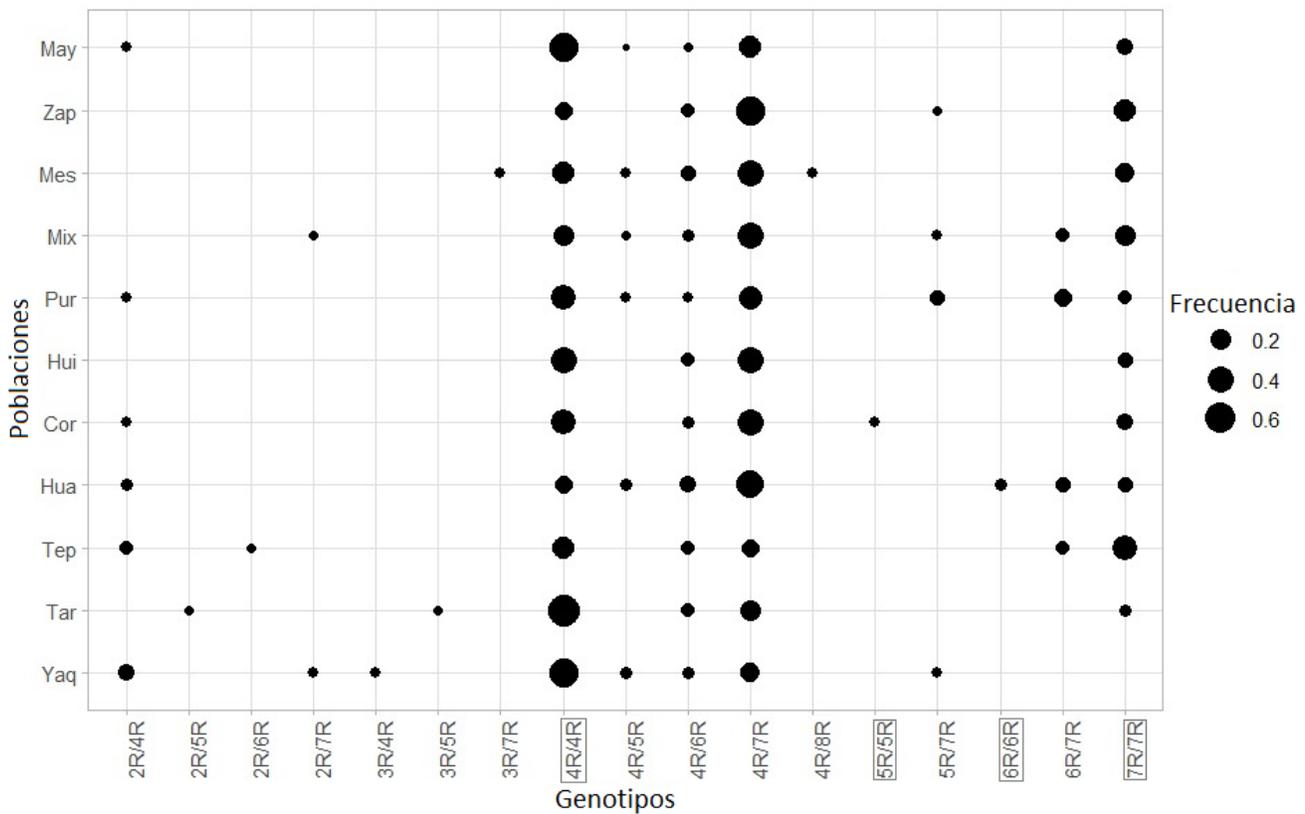


Fig 10 Representación gráfica de las frecuencias genotípicas encontradas en este trabajo; el diámetro del círculo representa la frecuencia genotípica encontrada; los genotipos homocigotos se muestran encerrados en un rectángulo.

Los valores de heterocigosis observada más altos se encontraron en la población huasteca ($H_o=0.73$) esto debido a la gran cantidad de genotipos (4R/7R) presentes en la población. Por otra parte, los valores más bajos de H_o los presentaron los tarahumaras ($H_o=0.32$) y los mayas ($H_o=0.31$), esta presencia baja de heterocigotos también se ve reflejado en el coeficiente de endogamia f donde ambos presentan valores superiores a 0.1 (ver Fig 10 y tabla 3).

En relación con los genotipos, la mayoría de estos incluían el haplotipo 4R, esto se puede ver claramente en la figura 10. Los genotipos presentes en las 11 poblaciones fueron el 4R/4R, el 4R/6R y el 4R/7R, mientras que el genotipo homocigoto de 7R/7R sólo no fue encontrado en la población yaqui, esto debido a su semejanza con la frecuencia baja de 7R encontrada en los pueblos pima, pueblo jemez, muskoque y cheyenne publicados por (Wang et al., 2004). La frecuencia genotípica más alta fue encontrada en la población tarahumara con un 64.3% y la maya con 56.7% de frecuencia para el genotipo homocigoto de 4R/4R, razón por la cual la heterocigosis de estas poblaciones es la más baja de todas las analizadas en el presente trabajo (Tabla 3).

Otra población que presentó una frecuencia alta del genotipo 4R/4R fueron los yaquis con 53.8% de su frecuencia. El 4R/4R fue el genotipo homocigoto más frecuente en todas las poblaciones a excepción de los tepehuanes y zapotecos donde la frecuencia del 7R/7R (35.1%) y (27.3%) fue la mayor (Tabla 3).

Con respecto a los heterocigotos, el genotipo 4R/7R fue el genotipo más frecuente de todos. Las poblaciones indígenas de Oaxaca (zapotecos 51.5%; mixes 40.5%; mixtecos 40.3%) junto con los huastecos (46.2%) coras (42.5%) y huicholes (44.4%) presentaron las frecuencias de 4R/7R más altas (Tabla 3).

En los genotipos menos frecuentes encontramos algunos que solo se encontraban en una población como es el genotipo 3R/4R presente en yaquis (2.6%), el 3R/5R en tarahumaras (1.8%), el 2R/6R en tepehuanes (1.8%), los huastecos 6R/6R (3.8%), los coras 5R/5R (2.5%), los mixes 3R/7R y el 4R/8R (ambas con el 2.7% Tabla 3).

Para analizar la relación entre las poblaciones se realizó una prueba de análisis molecular de varianza (AMOVA) donde los grupos se formaron basándose en las relaciones históricas y demográficas de las poblaciones, así como en los linajes mitocondriales y de cromosoma Y de estas muestras que previamente habían sido reportadas por González-Sobrino, (2016), González-Sobrino, et al., (2016) y Muñoz-Gerardo, (2021).

El AMOVA mostró que la mayor parte de la variación genética se atribuye a los individuos dentro de las poblaciones (92.8%). También se encontró diferencia significativa entre los grupos (FSC 0.0497), los resultados se muestran en la (Tabla 4) al igual que los resultados de FSC, FST y FCT donde se hallaron diferencias significativas en el FST y en el FSC (valor de $P \alpha=0.05$), es decir entre poblaciones dentro de los grupos y entre poblaciones y no entre los grupos.

Se obtuvieron los valores de FST comparados entre cada población donde se muestra la mayor variación entre la población tarahumara y zapoteca (FST= 0.234); la población yaqui y la zapoteca (FST= 0.221); y los tepehuanes con los tarahumaras (FST= 0.193). Por otra parte, los valores más bajos de FST se encontraron entre los coras y huicholes; tepehuanes y mixtecos; mixes y purépechas; y huastecos con purépechas donde las poblaciones no tenían variación entre ellas (FST=<0.001; ver Fig 11A).

El gráfico del análisis de componentes principales basados en las frecuencias alélicas muestra un patrón en el factor 1 entre las poblaciones indígenas localizadas al norte y al sur del país. Hay una asociación del alelo 7 (*DRD4* 7R) en el sur con las poblaciones pertenecientes al estado de Oaxaca (mixtecos, zapotecos y mixes) y el alelo 4 (*DRD4* 4R) en el norte (yaquis y tarahumaras) con la excepción de la población maya que tiene una mayor presencia del polimorfismo de 4R (Fig 11B).

Tabla 4 análisis de AMOVA del *DRD4* en las 11 poblaciones indígenas.

AMOVA				
FUENTE DE LA VARIACIÓN	Suma de Cuadrados	Porcentaje de Variación	Índices de Fijación	Valor de P
ENTRE GRUPOS	27.9	2.341	FSC 0.049	<0.001
ENTRE POBLACIONES DENTRO DE LOS GRUPOS	15.5	4.853	FST 0.071	<0.001
DENTRO DE LAS POBLACIONES	625.4	92.804	FCT 0.023	0.22079
TOTAL	668.9			

Los grupos utilizados para realizar el análisis de AMOVA se mencionan en la Tabla 1.

Matriz de valores de FST y Análisis de componentes principales de los polimorfismos del DRD4 en poblaciones indígenas

A)

	Yaq	Zap	Mes	Mix	Pur	May	Hui	Tar	Cor	Tep	Cor	Tar	Hui	May	Pur	Mix	Mes	Zap	Yaq	Hua				
Yaq											0.111 *													
Zap											0.221 *											0.038 *		
Mes											0.03 *											0.059 *	0.004	
Mix											0.009											0.165 *	0.011	
Pur											0.023 *											0.071 *	0	
May											0.043 *											0.021 *	0.081 *	
Hui											0.01											0.052 *	0.031 *	
Tar											0.013 *											0.108 *	0.003	0.132 *
Cor											0.053 *											0.076 *	0.05	0.022 *
Tep											0.053 *											0.004	0.175 *	0.01

B)

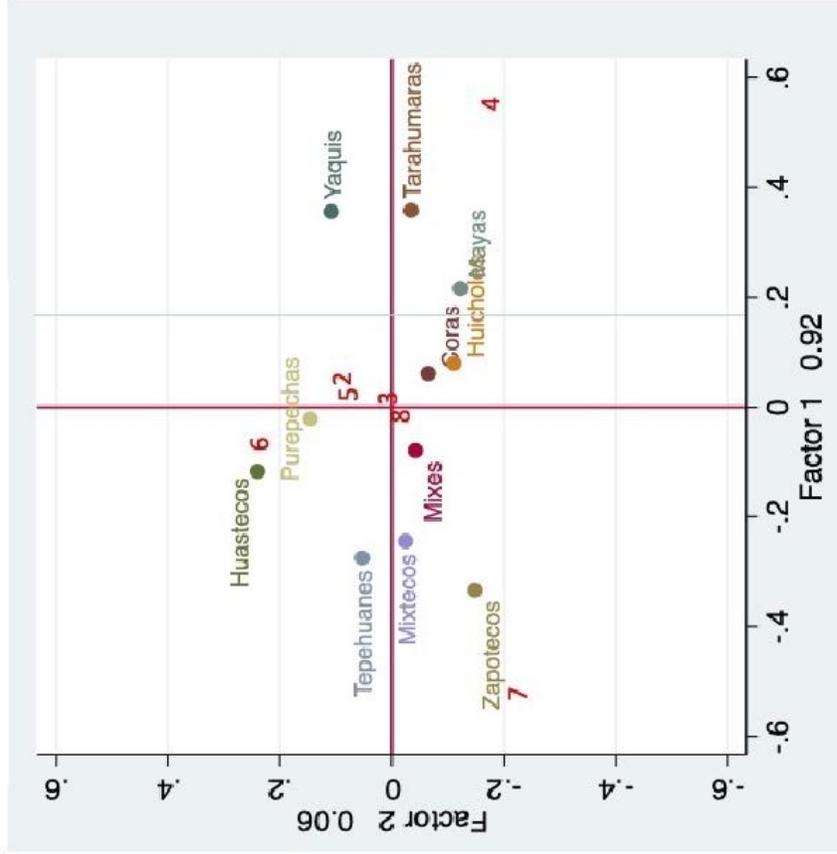


Fig 11 análisis de FST del DRD4 en 11 poblaciones indígenas de México. A) Distancias FST del DRD4 entre cada una de las poblaciones indígenas analizadas (*) diferencias significativas; B) análisis de componentes principales usando las frecuencias alélicas del DRD4, los números en rojo hacen referencia al alelo.

El análisis de componentes principales de las frecuencias genotípicas de igual forma muestra un agrupamiento de las muestras tarahumara, yaqui y maya con relación al genotipo 4-4 (*DRD4* 4R-4R), esto se debe a la gran cantidad de homocigotos que se encontraron en estas poblaciones. Algo similar sucede con los tepehuanes y su asociación con el genotipo homocigoto de 7-7 (*DRD4* 7R-7R), el resto de las poblaciones parece distribuirse en un grupo donde se ubican la mayoría de los genotipos heterocigotos (Fig 12).

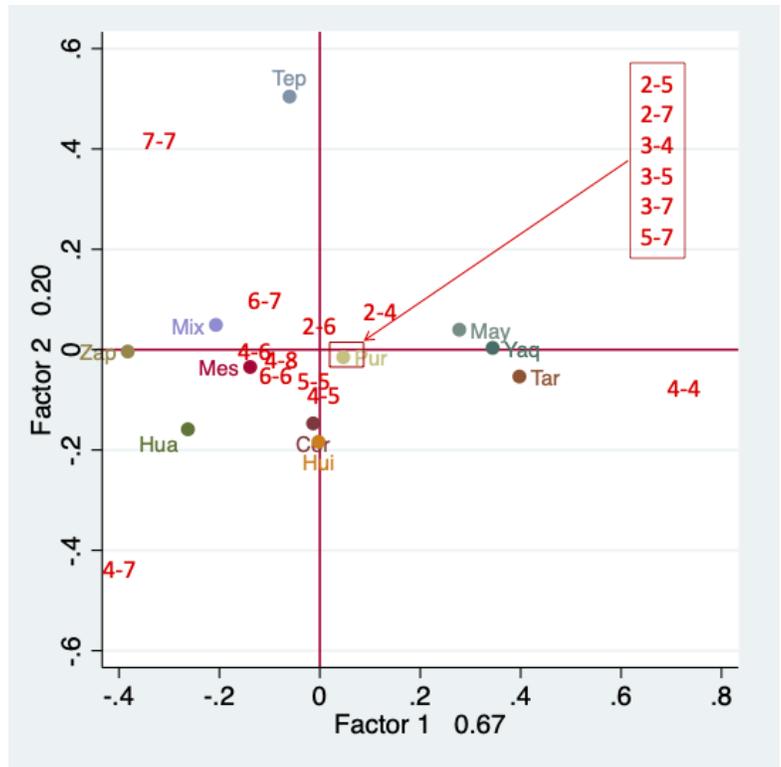


Fig 12 análisis de componentes principales de las frecuencias genotípicas del *DRD4* en poblaciones indígenas; Los números rojos indican los genotipos encontrados en este proyecto.

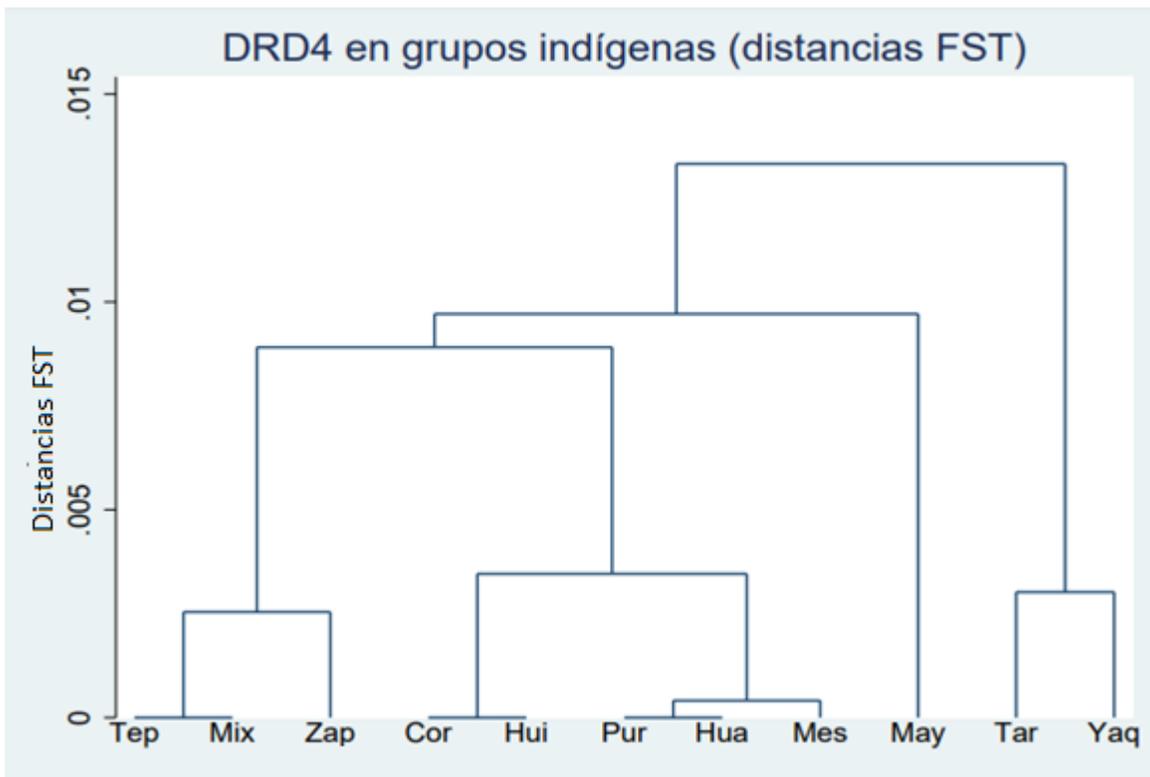


Fig 13 Dendrograma de las distancias de valores de FST de los polimorfismos del *DRD4* en 11 poblaciones indígenas

La Fig 13 muestra el dendrograma de similitud de los valores de FST donde podemos ver más claramente las semejanzas encontradas en el *DRD4* entre las poblaciones indígenas. La población tarahumara y yaqui se separa del resto de las poblaciones debido principalmente a la baja frecuencia alélica encontrada en el polimorfismo de 7R, al igual que la población maya; como se esperaba la población cora y huichol están agrupadas con la población purépecha, los huastecos y los mixes. Algunas sorpresas fueron las similitudes encontradas entre mixtecos y tepehuanes debido a la distancia geográfica que los separa y comparten similitudes con los zapotecos.

Para corroborar la subestructura en la población maya se realizó un análisis de componentes principales entre los genotipos de las muestras de Yucatán, Campeche y Quintana Roo reportando una marcada diferencia en los genotipos presentes en cada estado con una gran presencia de homocigotos 44(4R-4R) y 77 (7R-7R) en Campeche; una mayor presencia de heterocigotos 47 (4R-7R) en Quintana Roo; y una mayor diversidad de alelos en Yucatán como son el 2R, 5R y 7R (Fig 15).

De igual forma se consideró realizar un análisis para la población huasteca ya que en esta tesis se contaban con muestras tanto de San Luis Potosí, como de Veracruz. Lamentablemente se contó con una cantidad muy limitada de individuos de Veracruz (n=6) como para considerar representativas estas comparaciones.

Para entender cómo la distribución obtenida en este proyecto se comparaba con las frecuencias reportadas en otras poblaciones indígenas de América se elaboró un mapa mostrando las frecuencias alélicas de este proyecto junto con las compiladas por Tovo-Rodrigues et al., (2010) y se graficaron a continuación ordenando las poblaciones de norte a sur (Fig 14) y de igual forma se muestran las frecuencias de los alelos largos encontrados en esta tesis (Fig 16) y el de todas las poblaciones indígenas descritas (Fig 17). El mapa muestra claramente una reducción en los polimorfismos largos (principalmente de 7R) en las regiones norte y sur del continente. Parece ser que el cambio en las frecuencias de 4R y 7R en el hemisferio norte ocurre en el norte de México.

Frecuencias alélicas del DRD4 en poblaciones indígenas de América

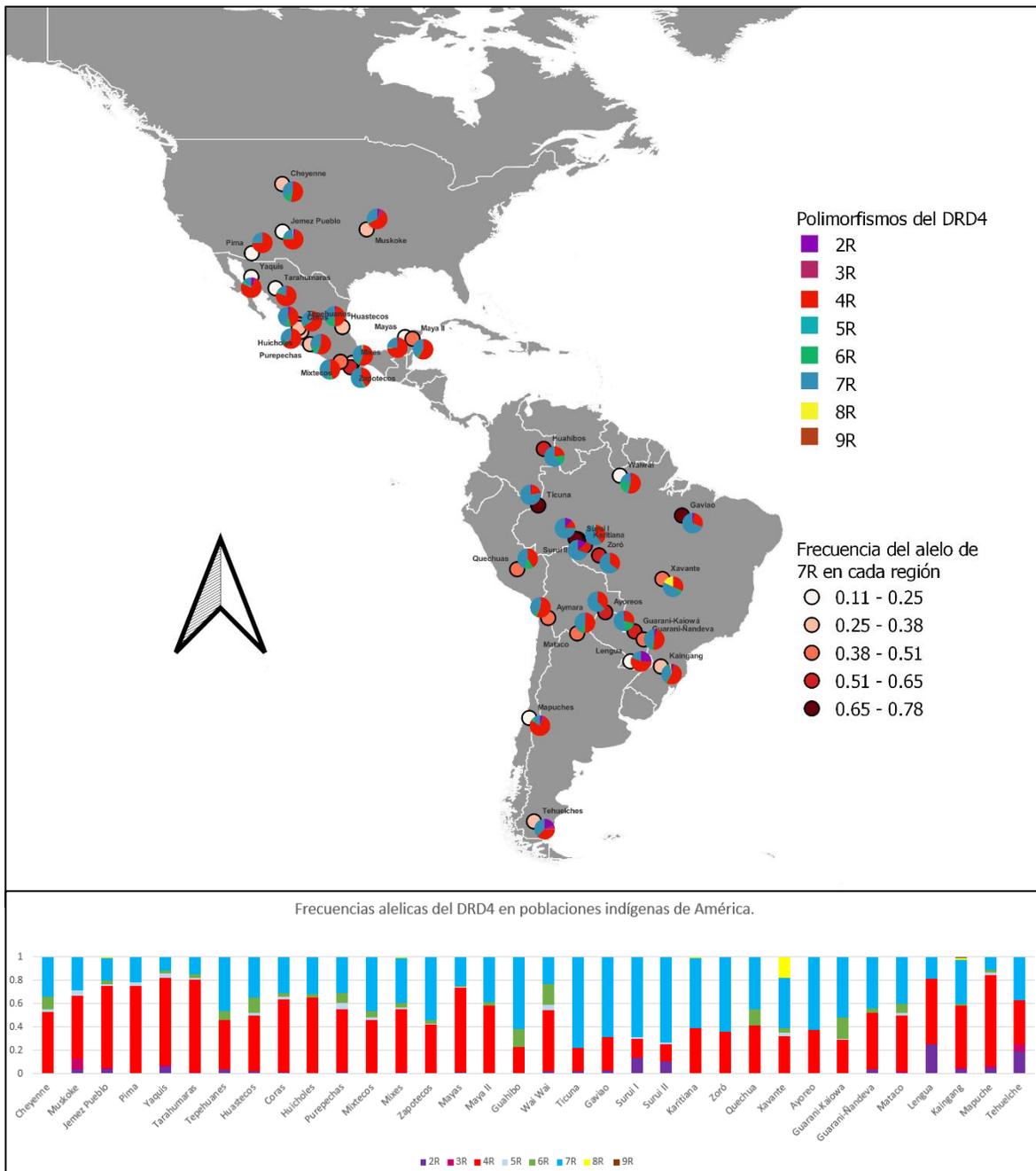


Fig 14 Mapa de las frecuencias alélicas del DRD4 en poblaciones indígenas de América. Datos obtenidos de esta tesis y de (Tovo-Rodrigues 2010); el círculo de color junto a las gráficas de pastel muestra el gradiente de color de la frecuencia del polimorfismo de 7R; En la parte inferior del mapa se muestra una gráfica de barras con las frecuencias alélicas de las poblaciones ordenadas de norte a sur.

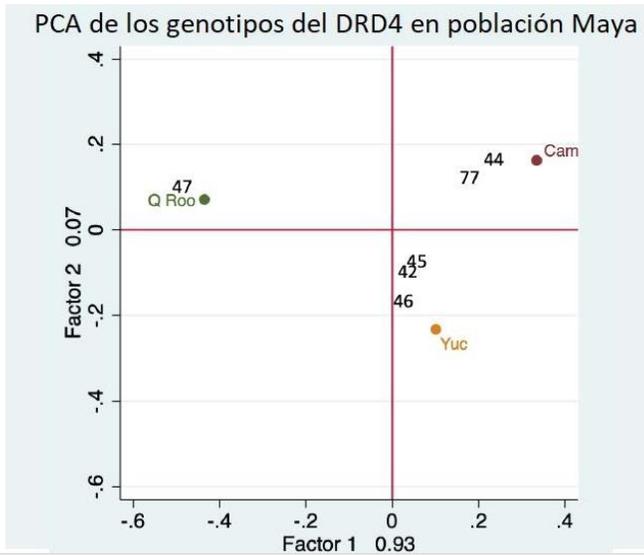


Fig 15 análisis de componentes principales de los genotipos del DRD4 de tres estados de la población Maya; los números representan los genotipos del DRD4.

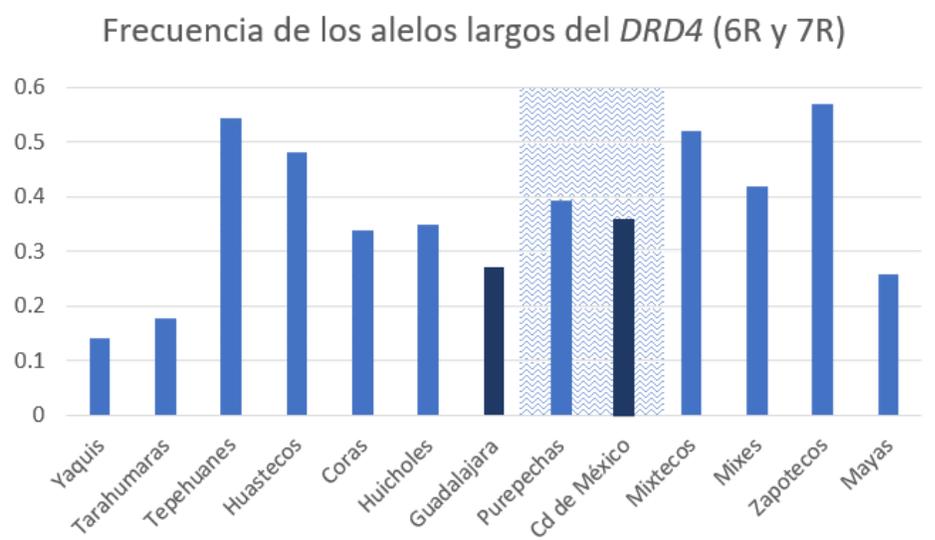


Fig 16 Frecuencia de los alelos largos del DRD4 (6R y 7R) en poblaciones indígenas de México; en azul claro se muestran las frecuencias obtenidas en esta tesis y en azul fuerte las frecuencias de las Ciudades de México que se han descrito; la sombra azul muestra donde se localiza el Eje Volcánico transversal.

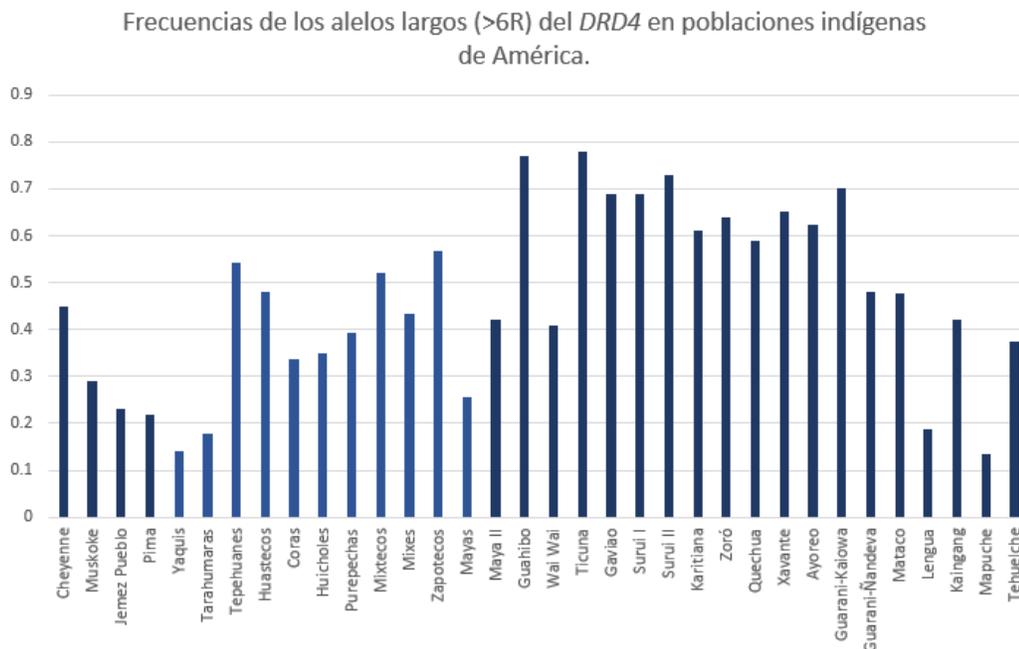


Fig 17 Frecuencia de los alelos largos del DRD4 (>6r) en poblaciones indígenas de América; en azul claro se muestran las frecuencias obtenidas en esta tesis.

Discusión

- El *DRD4* en las poblaciones indígenas de México

Los resultados mostraron que existe una marcada diferencia en las frecuencias del *DRD4* entre las poblaciones, principalmente en las localizadas al norte del país y en la población Maya comparado con respecto al resto de las poblaciones analizadas. De igual forma el dendrograma y el análisis de componentes principales de alelos y genotipos parece soportar la hipótesis de Aguirre-Samudio, et al., (2014) donde parece existir un incremento del alelo 7R del *DRD4* a partir del eje neovolcánico transversal (Fig 14 y Fig 17).

Debemos tener presente que todas las poblaciones analizadas en este trabajo tienen un mayor o menor grado de mestizaje (González Sobrino, 2016) y por ello se debe tener presente si las frecuencias alélicas y genotípicas encontradas en esta tesis se deben a la variación presente en América antes de la conquista o es fruto del mestizaje post conquista. Los estudios mtDNA y de cromosoma Y nos pueden dar una idea del nivel de mestizaje que presentan las poblaciones e indirectamente mostrar el posible origen de los polimorfismos del *DRD4*. Por ejemplo, la población cora y los tepehuanes no muestran linajes no amerindios en su mtDNA en los resultados publicados por González-Sobrino, et al., (2016).

Las poblaciones tarahumaras y yaquis pertenecientes a la región norte del país se caracterizaron por poseer las frecuencias de 7R más bajas: 15.2% y 11.5% respectivamente. Estas poblaciones habitan una de las zonas con menos incursión española durante el siglo XVI. La zona era diversa en grupos de poblaciones cazadoras recolectoras, pescadores y semi agricultores (González-Sobrino, 2016).

La historia de la población tarahumara por otra parte es de aislamiento, su interacción con la nueva España comenzó hasta el siglo XVII donde se generaron revueltas y rebeliones, llegando al punto de generarse regiones tarahumaras completamente aisladas. González-Sobrino, et al., (2016) reporta un 91% de ancestría americana en su linaje paterno y un 100% en su linaje materno. Estos resultados nos muestran que la población tarahumara tiene un grado menor de

mestizaje comparado con otras poblaciones indígenas de México. Sus frecuencias del *DRD4* son muy similares a las de la población yaqui y a su vez similar al pueblo jemez y los pima (Fig 14). Estos resultados sugieren que existe una mayor similitud con poblaciones colindantes al norte que con los tepehuanes, coras o huicholes localizados más al sur. Los valores de *F_{ST}* más altos obtenidos de este trabajo se encuentran precisamente entre los yaquis y zapotecos (*F_{ST}*= 0.221); y los tarahumaras con los zapotecos (*F_{ST}*= 0.234). Estos resultados coinciden con el valor de *F_{ST}* cercanos a 0.2 entre tarahumaras y zapotecos reportados por Gonzales Sobrino (2016).

Los tepehuanes han tenido mayores interacciones y flujos génicos con pueblos al sur (coras y huicholes), esto ha hecho que existe una relación en las frecuencias de los linajes mitocondriales, de cromosoma Y (González-Sobrino et al., 2016) y en DNA genómico (Moreno-Estrada et al., 2014). Sorprendentemente las mayores similitudes encontradas de esta población en los polimorfismos del *DRD4* fue con la población zapoteca (*F_{ST}*=0.004), los huastecos (*F_{ST}*=0.01) y los mixtecos (*F_{ST}*<0.01).

La similitud entre la población tepehuana y las poblaciones indígenas de Oaxaca ya había sido reportada por Gonzalez-Sobrino, et al., (2016). Donde estas poblaciones fueron agrupadas dentro del dendrograma de linajes maternos pertenecientes al centro del país (Gonzalez-Sobrino, et al., 2016 y Gonzalez Sobrino, 2016). Esta asociación entre tepehuanes y las poblaciones indígenas de Oaxaca reportadas en este trabajo se mantiene en el *DRD4* al tener alta frecuencia de 7R.

El coeficiente de endogamia (*f*) en los tarahumaras fue el más grande reportado en esta tesis (0.388) debido a que las frecuencias de los homocigotos 4R/4R y 7R/7R suman >60% en esta población; y aun cuando esta endogamia podría deberse a su tamaño poblacional (37,500 personas aproximadamente) según el indicador socioeconómico de los pueblos indígenas de México, (2002), no parece ser la única explicación ya que tanto la población cora que tiene una población aproximada de 24,400 individuos y la población huichol de aproximadamente 44,000 personas, no presentan estos valores tan altos de endogamia. Es importante mencionar que la población tarahumara junto con los mayas fueron las únicas

poblaciones que no se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg sugiriendo la endogamia en estas poblaciones (Tabla 2).

Es muy probable que el valor de f tan alto en los tepehuanes ($f=0.388$) se deba al efecto Wahlund, que es una reducción en los heterocigotos producto de una subestructura dentro de la población (De Meeûs, 2018). Este mismo fenómeno está presente en la población maya (Tabla 2 y Fig 10) y puede darse debido a la alta heterogeneidad de estas poblaciones (Fig 15). Por ejemplo, los tepehuanes tienen una alta relación con los grupos indígenas de Oaxaca y a su vez un considerable linaje europeo (18%) y africano (5%) del cromosoma Y aunado a una historia de flujos genéticos con otras poblaciones norteamericanas dándole una alta diversidad genética dentro de la misma población (González-Sobrino, et al., 2016).

La población cora y huichol presentaron frecuencias muy similares entre sí en los polimorfismos del *DRD4*, con la diferencia de encontrar un coeficiente de endogamia (f) mayor en la población cora debido quizá a que históricamente la población cora es más pequeña comparada con la huichol. Por otra parte, la similitud entre las dos poblaciones ($F_{ST} = <0.001$) se ha reportado previamente por González-Sobrino, et al., (2016) con valores de F_{ST} ($F_{ST} = <0.001$) en SNPs, esto se debe principalmente a que ambas poblaciones cohabitan la región del Nayar y la historia de ambos pueblos está fuertemente relacionada.

Los huastecos tuvieron la mayor similitud en frecuencias del *DRD4* con la población purépecha, que es la población indígena más cercana geográfica a ellos analizada en esta tesis. Algo muy particular de esta población es que mostró la mayor frecuencia del alelo 6R (13.5%).

Dada la relevancia que tiene el alelo de 7R, la región de Oaxaca ha llamado especialmente la atención en este trabajo ya que es un territorio con una gran diversidad cultural y con una gran cantidad de población indígena. Las poblaciones indígenas de Oaxaca analizadas mostraron unas de las frecuencias de 7R más altas reportadas en el Norte del continente: mixtecos (46.5%), mixes (37.8%) y zapotecos (53.8%). González-Sobrino, et al., (2016) reporta valores de F_{ST} bajos ($F_{ST} = <0.001$) entre la población de Oaxaca utilizando SNPs (Fig 11A)

Debido a los pocos cambios territoriales que hay entre los pueblos indígenas de Oaxaca, es posible que las distancias genéticas de linajes mitocondriales no variaron mucho entre las presentes antes de la conquista y las actuales (González Sobrino, 2016). Esto coincide con los valores de F_{ST} encontrados en el *DRD4* ($F_{ST} = <0.03$) entre mixtecos-mixes, mixes-zapotecos y zapotecos-mixtecos. Además, estas poblaciones reportan 95% de linaje amerindio para el cromosoma Y y 100% Amerindio para el mtDNA en mixtecos; y 99% cromosoma Y y 100% mtDNA americano en zapotecos lo cual sugiere un menor grado de flujo genético proveniente de otras regiones del mundo.

Es muy probable que la ausencia de linajes no amerindios provoque la ausencia del alelo 2R en las poblaciones indígenas de Oaxaca analizadas en esta tesis, ya que es un alelo muy poco común en América (Chang et al., 1996). Esto puede sugerir que la presencia del alelo 2R en la Cd. De México y Guadalajara (Fig 8) se debe al flujo genético proveniente de otros continentes.

Por último, el caso de la población Maya es muy particular, ya que presenta frecuencias alélicas de los polimorfismos del *DRD4* completamente distintas a las demás con una baja frecuencia del alelo 7R similar a la del norte del país siendo opuesto a las frecuencias encontradas en las poblaciones más cercanas a ella analizadas en esta tesis. Esto puede deberse posiblemente al grado de mestizaje que ha tenido la población Maya (González-Sobrino et al., 2016; Moreno-Estrada et al., 2014). Las frecuencias de los polimorfismos del *DRD4* en la población Maya de esta tesis y la previamente publicada "Maya II" (Chang et al., 1996) son distintas (Fig 14).

La razón principal de las diferencias en las frecuencias del *DRD4* en los mayas es la gran diversidad genética y heterogeneidad producto de su distribución, su tamaño poblacional y su historia demográfica. Si bien, por el tamaño muestral en este trabajo se juntaron todos los individuos de la población Maya (Campeche, Tabasco, Quintana Roo y Yucatán), lo ideal sería manejar las poblaciones como subgrupos separados como lo hacen Moreno-Estrada et al. (2014) con la población Maya y Nahua. Se ha reportado variación en mtDNA entre grupos distintos de poblaciones Mayas como son los Lacandones y los Tojolabales (González Oliver et

al., 2018). El valor $f=0.246$, nos indica la presencia de una subestructura dentro de la población, por esta razón se realizó el PCA de la (Fig 15) donde se muestra la heterogeneidad en los genotipos del *DRD4* en los mayas, con una mayor cantidad de heterocigotos en la población de Yucatán. Gonzalez-Oliver et al., (2018) reportan una gran heterogeneidad en la población maya de Yucatán debido a su forma de agrupamiento (en poblaciones pequeñas y aisladas). Es posible que esta heterogeneidad y sub estructura dentro de los mayas sea la razón de que junto con los tarahumaras, sean las únicas dos poblaciones que no se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 2).

González Sobrino, (2006) reporta un componente europeo y africano del 28% en el DNA nuclear de la población Maya, así como un 33% de ancestría europea en el cromosoma Y siendo la segunda población indígena con valores más altos no amerindios reportadas en su estudio después de los Otomíes. Estos linajes pueden explicar la presencia de polimorfismos de 2R en la población Maya y que solo se encuentran en el norte del país y en las ciudades de México (Ver Fig 8).

Los análisis de componentes principales (Fig 11B y 12) muestran un patrón de distribución de alelos cortos al norte, principalmente 4R y en el sur un incremento de alelos largos principalmente 7R. Estos resultados coinciden con la hipótesis de Aguirre-Samudio et al., (2014) donde parece existir una dispersión del alelo 7R al sur del eje volcánico transversal. Los resultados parecen mostrar que de la población purépecha hacia el sur se incrementa la frecuencia de alelos largos del *DRD4* con excepción de la población Maya (Fig 16). Aun así las poblaciones al norte del eje neovolcánico como los tepehuanes, coras, huicholes y huastecos ya presentan frecuencias altas de 7R. Para entender mejor la dispersión de este polimorfismo en el país sería necesario estudiar más poblaciones del centro-norte para entender la relación existente en la distribución de los polimorfismos del lado este y oeste de México.

El flujo de poblaciones humanas a través del eje volcánico transversal del lado de la costa del Pacífico ha sido reportada desde hace 9,000 años donde existían corredores biológico-culturales enmarcados por cuerpos de agua dulce como lagos y ríos. Algunos de estos corredores podrían ser Santiago-Matanchén; Zacoalco-

Sayula-Tuxcacuesco-Armería-Tuxpan-Coahuayana;Chapala-Tepacatepec-Infiernillo; Valle de México-Cuautla-Amacuzac-Atoyac-Mezcala-Papagayo; Valsequillo-Salado-Atoyac-Tehuantepec-Grijalva-Costa de Chiapas. (Zizumbo Villarreal & García Marín, 2008). Parece ser que estas posibles rutas pueden explicar las similitudes encontradas en el análisis de componentes principales tanto de alelos como genotipos del *DRD4* donde se encuentran agrupadas todas las poblaciones analizadas del lado del océano Pacífico.

Los trabajos previamente publicados hacen referencia a una variación en la frecuencia del alelo 7R del gen *DRD4* producto de cuellos de botella o rasgos que favorecen el comportamiento migratorio de algunos individuos comparados con otros (Aguirre et al., 2007; Tovo-Rodrigues et al., 2010). Con esta tesis nos podemos hacer una mejor idea de cómo cambian las frecuencias alélicas del *DRD4* en las poblaciones indígenas a lo largo del continente (Ver Fig 14).

Los resultados muestran un gradiente de las frecuencias de 7R teniendo los valores más altos entre los trópicos y las frecuencias más bajas de 7R se encuentran cercanos a los Polos (Fig 17).

Esta tesis muestra que el cambio en las frecuencias alélicas más importante del *DRD4* en América se encuentra en México, con una población norteña alta en frecuencias de 4R (la población yaqui y tarahumara) y un incremento paulatino de las frecuencias de 7R a partir del eje neovolcánico transversal que va aumentando hasta llegar al sur de México. El incremento de 7R se mantiene en norte de Sudamérica, pero faltan datos en Centroamérica para corroborar si las frecuencias 7R se mantienen altas entre los trópicos de Cáncer y Capricornio. Una posible explicación para este incremento en las frecuencias de 7R es la selección positiva ya que parece ser que este polimorfismo tiene un valor adaptativo en las poblaciones migrantes y por esta razón el alelo 7R se encuentra más presente en poblaciones nómadas que se dedican a la caza y a la recolección (Chen et al., 1999) como por ejemplo la población suruí, gavião y guahibo que tienen hábitos nómadas o seminómadas y frecuencias muy altas de 7R >60% (Tovo-Rodrigues et al., 2010).

Conclusiones

- Existen diferencias en las frecuencias de los polimorfismos del *DRD4* dentro de las poblaciones indígenas de México con una mayor frecuencia del alelo de 4R en el norte y un incremento paulatino del 7R en el sur.
- El alelo de 2R del *DRD4* es muy poco frecuente e incluso inexistente en algunas poblaciones indígenas del país.
- El alelo *DRD4* 7R presenta las frecuencias más altas en las poblaciones del sur de México, en particular Oaxaca.
- A partir del eje neovolcánico transversal parece darse el incremento en las frecuencias de 7R apoyando la hipótesis de Aguirre-Samudio et al., 2014.
- Los tepehuanes y los Mayas presentan una deficiencia de heterocigosis, lo que sugiere la presencia de subpoblaciones dentro de estos grupos generadas por el efecto Wahlund.

Referencias bibliográficas

- Acuña-Soto, R., Stahle, D. W., Cleveland, M. K., & Therrell, M. D. (2002). Megadrought and megadeath in 16th century Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, *8*(4), 360–362. <https://doi.org/10.3201/eid0804.010175>
- Aguirre-Samudio, A. J., Cruz-Fuentes, C. S., González-Sobrino, B. Z., Gutiérrez-Pérez, V., & Medrano-González, L. (2014). Haplotype and nucleotide variation in the exon 3-VNTR of the *DRD4* gene from indigenous and urban populations of Mexico. *American Journal of Human Biology*, *26*(5), 682–689. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22581>
- Aguirre-Samudio, A. J., & Nicolini, H. (2005). El gen receptor a dopamina D4 y su asociación con los trastornos mentales. *Revista de Investigación Clínica*, *57*(1), 65–75. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762005000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Aguirre, A. J., Apiquián, R., Fresán, A., & Cruz-Fuentes, C. (2007). Association analysis of exon III and exon I polymorphisms of the dopamine D4 receptor locus in Mexican psychotic patients. *Psychiatry Research*, *153*(3), 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2006.12.011>
- Bachner-Melman, R., Gritsenko, I., Nemanov, L., Zohar, A. H., Dina, C., & Ebstein, R. P. (2005). Dopaminergic polymorphisms associated with self-report measures of human altruism: A fresh phenotype for the dopamine D4 receptor [3]. *Molecular Psychiatry*, *10*(4), 333–335. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001635>
- Bahena-Trujillo. (2000). *Dopamina : síntesis , liberación y receptores en el Sistema*. *11*(1), 39–60.
- Bailey, J. N., Breidenthal, S. E., Jorgensen, M. J., McCracken, J. T., & Fairbanks, L. A. (2007). The association of *DRD4* and novelty seeking is found in a nonhuman primate model. *Psychiatric Genetics*, *17*(1), 23–27. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e32801140f2>
- Bateup, H. S., Svenningsson, P., Kuroiwa, M., Gong, S., Nishi, A., Heintz, N., & Greengard, P. (2008). Cell type-specific regulation of DARPP-32 phosphorylation by psychostimulant and antipsychotic drugs. *Nature Neuroscience*, *11*(8), 932–939. <https://doi.org/10.1038/nn.2153>
- Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological Reviews*, *63*(1), 182–217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
- Beaulieu, J. M., Sotnikova, T. D., Gainetdinov, R. R., & Caron, M. G. (2006). Paradoxical striatal cellular signaling responses to psychostimulants in hyperactive mice. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(43), 32072–32080. <https://doi.org/10.1074/jbc.M606062200>
- Beaver, K. M., Wright, J. P., Boutwell, B. B., Barnes, J. C., DeLisi, M., & Vaughn, M. G. (2013). Exploring the association between the 2-repeat allele of the MAOA gene promoter polymorphism and psychopathic personality traits, arrests, incarceration, and lifetime antisocial behavior. *Personality and Individual Differences*, *54*(2), 164–168. <https://doi.org/10.1016/j.paid.2012.08.014>
- Bender, A. (2020). What Early Sapiens Cognition Can Teach Us: Untangling Cultural Influences on Human Cognition Across Time. *Frontiers in Psychology*, *11*(January), 1–6.

<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.00099>

- Camarena, B., Loyzaga, C., Aguilar, A., Weissbecker, K., & Nicolini, H. (2007). Association study between the dopamine receptor D4 gene and obsessive-compulsive disorder. *European Neuropsychopharmacology*, *17*(6–7), 406–409. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2006.08.001>
- Cavalli-Sforza, L. L. (2007). *La evolución de la cultura* (E. Anagrama (Ed.); Primera ed).
- Chang, F. M., Kidd, J. R., Livak, K. J., Pakstis, A. J., & Kidd, K. K. (1996). The world-wide distribution of allele frequencies at the human dopamine D4 receptor locus. *Human Genetics*, *98*(1), 91–101. <https://doi.org/10.1007/s004390050166>
- Chen, C., Burton, M., Greenberger, E., & Dmitrieva, J. (1999). Population migration and the variation of dopamine D4 receptor (DRD4) allele frequencies around the globe. *Evolution and Human Behavior*, *20*(5), 309–324. [https://doi.org/10.1016/S1090-5138\(99\)00015-X](https://doi.org/10.1016/S1090-5138(99)00015-X)
- Chiao, J. Y., & Blizinsky, K. D. (2010). Culture-gene coevolution of individualism/collectivism and the serotonin transporter gene. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1681), 529–537. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1650>
- Coolidge, F. L., & Wynn, T. (2016). An Introduction to Cognitive Archaeology. *Current Directions in Psychological Science*, *25*(6), 386–392. <https://doi.org/10.1177/0963721416657085>
- De Meeûs T. (2018). Revisiting FIS, FST, Wahlund Effects, and Null Alleles. *The Journal of heredity*, *109*(4), 446–456. <https://doi.org/10.1093/jhered/esx106>
- Ding, Y. C., Chi, H. C., Grady, D. L., Morishima, A., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Flodman, P., Spence, M. A., Schuck, S., Swanson, J. M., Zhang, Y. P., & Moyzis, R. K. (2002). Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(1), 309–314. <https://doi.org/10.1073/pnas.012464099>
- Dowd, B. F. O. (1992). Repeat sequences in the gene encoding the human D4 dopamine receptor. *118*, 301–302.
- Epstein, R. P., Novick, O., Umansky, R., Priel, B., Osher, Y., Blaine, D., Bennett, E. R., Nemanov, L., Katz, M., & Belmaker, R. H. (1996). Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking. *Nature Genetics*, *12*(1), 78–80. <https://doi.org/10.1038/ng0196-78>
- Eisenberg, D. T. A., Campbell, B., Gray, P. B., & Sorenson, M. D. (2008). Dopamine receptor genetic polymorphisms and body composition in undernourished pastoralists: An exploration of nutrition indices among nomadic and recently settled Ariaal men of northern Kenya. *BMC Evolutionary Biology*, *8*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-173>
- Eslami Rasekh, M., Hernández, Y., Drinan, S. D., Fuxman Bass, J. I., & Benson, G. (2021). Genome-wide characterization of human minisatellite VNTRs: Population-specific alleles and gene expression differences. *Nucleic Acids Research*, *49*(8), 4308–4324. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab224>
- Gabriela, M. L., John, D. G., Magdalena, B. V., Ariadna, G. S., Francisco, D. I. P. O., Liz, S. M., Lino, P. C., Josefina, R. G., Ernesto, R. Z., & Carlos, C. F. (2009). Genetic interaction analysis for DRD4

- and DAT1 genes in a group of Mexican ADHD patients. *Neuroscience Letters*, 451(3), 257–260. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.01.004>
- Gilad, Y., Rosenberg, S., Przeworski, M., Lancet, D., & Skorecki, K. (2002). Evidence for positive selection and population structure at the human MAO-A gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(2), 862–867. <https://doi.org/10.1073/pnas.022614799>
- Gintis, H. (2007). A framework for the unification of the behavioral sciences. *Behavioral and Brain Sciences*, 30(1), 1–16. <https://doi.org/10.1017/S0140525X07000581>
- Glowinski, J. (2017). Initial steps of the dopamine story. *Revue Neurologique*, 173(10), 606–607. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2017.10.011>
- Gnecco, C. (2006). Agrilocalidades y territorialidad en el pleistoceno tardío del norte de Sudamérica. In *El hombre temprano en América* (pp. 221–230).
- González-Oliver, A., Pineda-Vázquez, D., Garfias-Morales, E., La Cruz-Laina, I., Medrano-González, L., Márquez-Morfin, L., & Ortega-Muñoz, A. (2018). Genetic Overview of the Maya Populations: Mitochondrial DNA Haplogroups. *Human biology*, 90(4), 281–300. <https://doi.org/10.13110/humanbiology.90.4.03>
- Gonzales, S., Jiménez López, J. C., Hedges, R., Pompa y Padilla, J. A., & David, H. (2006). Early humans in Mexico: new chronological data. In I. N. de A. e Historia (Ed.), *El hombre temprano en América* (1st ed., pp. 67–76).
- González Sobrino, B. Z. (2016). *México entre ajetes históricos y enredos genéticos* (I. de I. A. Universidad Nacional Autónoma de México (Ed.); Primera ed).
- González-Sobrino, B. Z., Pintado-Cortina, A. P., Sebastián-Medina, L., Morales-Mandujano, F., Contreras, A. V., Aguilar, Y. E., Chávez-Benavides, J., Carrillo-Rodríguez, A., Silva-Zolezzi, I., & Medrano-González, L. (2016). Genetic Diversity and Differentiation in Urban and Indigenous Populations of Mexico: Patterns of Mitochondrial DNA and Y-Chromosome Lineages. *Biodemography and Social Biology*, 62(1), 53–72. <https://doi.org/10.1080/19485565.2015.1117938>
- Halley, A. C., Boretsky, M., Puts, D. A., & Shriver, M. (2016). Self-Reported Sexual Behavioral Interests and Polymorphisms in the Dopamine Receptor D4 (DRD4) Exon III VNTR in Heterosexual Young Adults. *Archives of Sexual Behavior*, 45(8), 2091–2100. <https://doi.org/10.1007/s10508-015-0646-6>
- Hattori, E., Nakajima, M., Yamada, K., Iwayama, Y., Toyota, T., Saitou, N., & Yoshikawa, T. (2009). Variable number of tandem repeat polymorphisms of DRD4: Re-evaluation of selection hypothesis and analysis of association with schizophrenia. *European Journal of Human Genetics*, 17(6), 793–801. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2008.247>
- He, Y., Martin, N., Zhu, G., & Liu, Y. (2018). Candidate genes for Novelty-Seeking: A meta-analysis of association studies of DRD4 exon III and COMT Val158Me. *Psychiatric Genetics*, 28(6), 97–109. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000209>
- Henn, B. M., Cavalli-Sforza, L. L., & Feldman, M. W. (2012). The great human expansion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(44), 17758–17764. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212380109>

- Human Protein Atlas*. (2021). <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000069696-DRD4/tissue#:~:text=METABOLIC-,TISSUE,RNA tissue specificity%3A Low tissue specificity,-Pituitary gland>
- Jatana, N., Thukral, L., & Latha, N. (2015). Structure and dynamics of DRD4 bound to an agonist and an antagonist using in silico approaches. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 83(5), 867–880. <https://doi.org/10.1002/prot.24716>
- Jiang, Y., Chew, S. H., & Ebstein, R. P. (2013). The role of D4 receptor gene exon III polymorphisms in shaping human altruism and prosocial behavior. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7(May), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00195>
- Kidd, K. K., Pakstis, A. J., & Yun, L. (2014). An historical perspective on “The world-wide distribution of allele frequencies at the human dopamine D4 receptor locus.” *Human Genetics*, 133(4), 431–433. <https://doi.org/10.1007/s00439-013-1386-0>
- Kim, H. S., & Sasaki, J. Y. (2014). Cultural neuroscience: Biology of the mind in cultural contexts. *Annual Review of Psychology*, 65, 487–514. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115040>
- Kitayama, S., King, A., Yoon, C., Tompson, S., Huff, S., & Liberzon, I. (2014). The dopamine D4 receptor gene (DRD4) moderates cultural difference in independent versus interdependent social orientation. *Psychological Science*, 25(6), 1169–1177. <https://doi.org/10.1177/0956797614528338>
- Kluger, A. N., Siegfried, Z., & Ebstein, R. P. (2002). A meta-analysis of the association between DRD4 polymorphism and novelty seeking. *Molecular Psychiatry*, 7(7), 712–717. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001082>
- Laucht, M., Becker, K., & Schmidt, M. H. (2006). Visual exploratory behaviour in infancy and novelty seeking in adolescence: Two developmentally specific phenotypes of DRD4? *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 47(11), 1143–1151. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2006.01627.x>
- Lesch, K.-P. (1996). Association of Anxiety-Related Traits. *Science*, 272(5263), 2482–2488.
- Lichter, J. B., Barr, C. L., Kennedy, J. L., Van Tol, H. H. M., Kidd, K. K., & Livak, K. J. (1993). A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Human Molecular Genetics*, 2(6), 767–773. <https://doi.org/10.1093/hmg/2.6.767>
- Lombard, M., & Högberg, A. (2021). Four-Field Co-evolutionary Model for Human Cognition: Variation in the Middle Stone Age/Middle Palaeolithic. *Journal of Archaeological Method and Theory*, 28(1), 142–177. <https://doi.org/10.1007/s10816-020-09502-6>
- Martel, J. C., & Gatti, M. S. (2020). Dopamine Receptor Subtypes, Physiology and Pharmacology: New Ligands and Concepts in Schizophrenia. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01003>
- Matthews, L. J., & Butler, P. M. (2011). Novelty-seeking DRD4 polymorphisms are associated with human migration distance out-of-Africa after controlling for neutral population gene structure. *American Journal of Physical Anthropology*, 145(3), 382–389. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21507>

- Moreno-Estrada, A., Gignoux, C. R., Fernández-López, J. C., Zakharia, F., Sikora, M., Contreras, A. V., Acuña-Alonzo, V., Sandoval, K., Eng, C., Romero-Hidalgo, S., Ortiz-Tello, P., Robles, V., Kenny, E. E., Nuño-Arana, I., Barquera-Lozano, R., Macín-Pérez, G., Granados-Arriola, J., Huntsman, S., Galanter, J. M., ... Bustamante, C. D. (2014). The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science*, *344*(6189), 1280–1285. <https://doi.org/10.1126/science.1251688>
- Muñoz-Gerardo, Á. (2021). *Un acercamiento genético al norte : los yaquis y sus relaciones de parentesco*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Napierala, J. S., Gage, T., & Gage, T. (2016). *Social Networks and the Heritability of Migratory Behavior Social Networks and the Heritability of Migratory*. *5565*(June). <https://doi.org/10.1080/19485565.2015.1116374>
- Neubauer, S., Hublin, J., & Gunz, P. (2018). *The evolution of modern human brain shape*.
- Nielsen, R., Akey, J. M., Jakobsson, M., Pritchard, J. K., Tishkoff, S., & Willerslev, E. (2017). Tracing the peopling of the world through genomics. *Nature*, *541*(7637), 302–310. <https://doi.org/10.1038/nature21347>
- Osinga, T. E., Links, T. P., Dullaart, R. P. F., Pacak, K., Horst-schrijvers, A. N. A. Van Der, Kerstens, M. N., & Kema, I. P. (2017). *Emerging role of dopamine in neovascularization of pheochromocytoma and paraganglioma Emerging role of dopamine in neovascularization of pheochromocytoma and paraganglioma*. March 2018. <https://doi.org/10.1096/fj.201601131R>
- Paterson, A. D., Ch, B., Sunohara, G. A., Ph, D., & Kennedy, J. L. (1992). *Dopamine D4 Receptor Gene : Novelty or Nonsense ? 98*.
- Ramel, C. (1997). Mini- and microsatellites. *Environmental Health Perspectives*, *105*(SUPPL. 4), 781–789. <https://doi.org/10.1289/ehp.97105s4781>
- Richerson, P., & Boyd, R. (2012). Una teoría darwinista de la coevolución gen-cultura. *Revista Metodologica de Ciencias Sociales*, *23*, 13–40.
- Rondou, P., & Haegeman, G. (2010). *The dopamine D4 receptor : biochemical and signalling properties*. 1971–1986. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0293-y>
- Roussos, P., Giakoumaki, S. G., & Bitsios, P. (2009). *Neuropsychologia Cognitive and emotional processing in high novelty seeking associated with the L-DRD4 genotype*. *47*, 1654–1659. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2009.02.005>
- Rushton, J. P., Fulker, D. W., Neale, M. C., Nias, D. K. B., & Eysenck, H. J. (1986). *Altruism and Aggression : The Heritability of Individual Differences*. *50*(6).
- Salzano, F. M. (2012). *Is the human species still evolving ? To where ? 4*, 899–903.
- Sommer, M. (2015). *Population-genetic trees , maps , and narratives of the great human diasporas*. 1–38. <https://doi.org/10.1177/0952695115573032>
- Stallings, M. C., Hewitt, J. K., Cloninger, C. R., Heath, A. C., & Eaves, L. J. (1996). *Genetic and Environmental Structure of the Tridimensional Personality Questionnaire : Three or Four Temperament Dimensions ? 70*(1), 127–140.

- Thomson, C. J., Hanna, C. W., Carlson, S. R., & Rupert, J. L. (2013). The -521 C/T variant in the dopamine-4-receptor gene (DRD4) is associated with skiing and snowboarding behavior. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 23(2), e108–e113. <https://doi.org/10.1111/sms.12031>
- Tovo-Rodrigues, L., Callegari-jacques, S. M., Petzl-erler, M. L., Tsuneto, L., Salzano, F. M., & Hutz, M. H. (2010). *Dopamine Receptor D4 Allele Distribution in Amerindians : A Reflection of Past Behavior Differences ?* 464(July), 458–464. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21358>
- Tovo-Rodrigues, L., Rohde, L. A., Menezes, A. M. B., Polanczyk, G. V., Genro, J. P., Anselmi, L., & Hutz, M. H. (2013). *DRD4 Rare Variants in Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder (ADHD) : Further Evidence from a Birth Cohort Study.* 8(12), 2–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085164>
- Trejo, S., & Matute, E. (2015). *Hardy – Weinberg equilibrium analysis of the 48 bp VNTR in the III exon of the DRD4 gene in a sample of parents of ADHD cases.* 133–136.
- Van Tol, H. H. M., Bunzow, J. R., Guan, H.-C., Sunahara, R. K., Seeman, P., Niznik, H. B., & Civelli, O. (1991). Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350(6319), 610–614. <https://doi.org/10.1038/350610a0>
- Van Tol, H. H. M., Wu, C. M., Guan, H.-C., Ohara, K., Bunzow, J. R., Civelli, O., Kennedy, J., Seeman, P., Niznik, H. B., & Jovanovic, V. (1992). Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature*, 358(6382), 149–152. <https://doi.org/10.1038/358149a0>
- Wang, E., Ding, Y., Flodman, P., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Grady, D. L., Ryder, O. A., Spence, M. A., Swanson, J. M., & Moyzis, R. K. (2004). *The Genetic Architecture of Selection at the Human Dopamine Receptor D4 (DRD4) Gene Locus.* 4, 931–944.
- Weeland, J., Overbeek, G., & Orobio, B. (2015). Underlying Mechanisms of Gene – Environment Interactions in Externalizing Behavior : A Systematic Review and Search for Theoretical Mechanisms. *Clinical Child and Family Psychology Review*, 18(4), 413–442. <https://doi.org/10.1007/s10567-015-0196-4>
- Woods, A. S. (2010). *The dopamine D 4 receptor , the ultimate disordered protein.* 30(5), 331–336. <https://doi.org/10.3109/10799893.2010.513842>
- Yeragani, V. K., Tancer, M., Chokka, P., & Baker, G. B. (2010). *Arvid Carlsson , and the story of dopamine.* 52(1), 87–89. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.58907>
- Zizumbo Villarreal, Daniel , & García Marín, Patricia Colunga (2008). El origen de la agricultura, la domesticación de plantas y el establecimiento de corredores biológico-culturales en Mesoamérica. *Revista de Geografía Agrícola*, (41),85-113.[fecha de Consulta 4 de Octubre de 2022]. ISSN: 0186-4394. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=7571147200>

Apéndice (Tabla suplementaria 1). *Motifs* de la región VNTR del *DRD4*. Modificado de Ding et al., (2002) y Tovo-Rodrigues et al., (2013).

Variantes	Secuencia de nucleótidos																
	Secuencia de aminoácidos																
	10	20	30	40	48												
1	A	CCC	GCG	CCC	CGC	CTC	CCC	CAG	GAC	CCC	TGC	GGC	CCC	GAC	TGT	GCG	CC
	Pro	Ala	Pro	Arg	Leu	Pro	Gln	Asp	Pro	Cys	Gly	Pro	Asp	Cys	Ala	Pro	
2	c	G..	..T	...	G..	GT
				Gly			Arg	Gly									
3	c	G..	...	A..
		Ala		Ser													
4	c	G..	C..	T..	A..T
				Gly			Pro					Ser	Asn				
5	c	G..
				Gly													
6	c	G..	...	G..	C..
		Ala		Gly			Pro										
7	c	G..	..T
				Gly													
8	c	T..	..T	...	G..	GT
				Cys			Arg	Gly									
9	c	G..	..T	...	G..	GTT
				Gly			Arg	Gly									
10	c	G..	..T	GT
				Gly				Gly									
11	c	A..
				Ser													
12	c	G..	...	G..
		Ala		Gly													
13	c	G..	...	G..
		Ala		Gly													
14	c	G..	...	A..
		Ala		Ser													
15	c	G..	...	G..	..T	...	G..	..T
		Ala		Gly			Arg										
16	c	G..
				Gly													
17	c	G..	C..	T..	A..
				Gly			Pro					Ser	Asn				
18	c	G..	..T
				Gly													
19	cT	G..	C..	T..	A..T
				Gly			Pro					Ser	Asn				
20	c	G..	...	G..	C..	T..	A..T
		Ala		Gly			Pro					Ser	Asn				
21	c	G..	...	A..	T..	A..T
		Ala		Ser								Ser	Asn				
22	c	G..	...	G..	T..	A..T
		Ala		Gly								Ser	Asn				
23	c	G..
				Gly													
24	c	G..	..T	...	G..	GT
				Gly			Arg	Gly									
25	c	G..	...	A..	C..
		Ala		Ser			Pro										
26	c	G..	..T	...	G..	TT
				Gly			Arg	Val									
27	c	G..	C..
				Gly			Pro										
28	c	G..	C..G	T..	A..T
				Gly			Pro					Ser	Asn				
29	c	G..	...	A..
		Ala		Ser													
30	c
31	c	G..	...	A..
		Ala		Ser													
32	c	G..	...	A..
		Ala		Ser													
33	c	G..	..T	...	C..	T..	A..T
				Gly			Pro					Ser	Asn				
34	T	G..	..T	...	G..	GTT
				Gly			Arg	Gly									
35	c	G..	..A	...	C..	T..	A..T
				Gly			Pro					Ser	Asn				
36	c	..A	...	G..	..T	...	G..	GT	..T
		Glu		Gly			Arg	Gly	Leu								
37	c	G..	..T	...	G..	GTG
				Gly			Arg	Gly		Ser							
38	c	..T	...	G..	..T	...	G..	GT
		Val		Gly			Arg	Gly									
39	c	G..	..T	...	G..	GT	..G
				Gly			Arg	Gly									
40	c	A..
				Ser													
41	c	G..	..T	...	G..	GTT
				Gly			Arg	Gly		Cys							
42	c	G..	...	G..
		Ala		Gly													
43	c
44	c	T..
				Cys													
45	cC
46	cG	G..	..T	...	G..	GT
				Gly			Arg	Gly									
47	c	G..	T..	A..T	...
				Gly									Ser	Asn			
48	c	G..	C..T
				Gly			Pro										