

Dinâmica evolucionária do exon 3 do gene PAX9 nos maiores grupos geográficos humanos

Paixão-Côrtes VR ¹, Pereira TV², Bandeira IC¹, Mazières S³, BonattoSL⁴, Salzano FM¹, Meyer D⁵, Bortolini MC.

(1) Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; (2) Instituto do Coração, Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular, São Paulo; (3) Laboratoire d'Anthropobiologie, Toulouse, France; (4) Centro de Biologia Genômica e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; (5) Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Email para contato: vanessacez@gmail.com

O ser humano é imensamente curioso sobre si mesmo. Nossas origens, nossa jornada e nosso “destino” cultural e biológico são questões constantes e onipresentes tanto para a comunidade científica quanto para toda a humanidade. A genética de populações humana tem se mostrado uma ferramenta nova e eficaz para contar essa história, ou pelo menos parte dela. A utilização de marcadores neutros localizados em determinadas porções genômicas do mtDNA e do cromossomo Y, por exemplo, há algum tempo, vem contando quando e de que forma se dispersou as populações e os grandes grupos geográficos humanos. Entretanto, uma das principais questões antropológicas da atualidade é entender como seleção natural moldou o homem ao seu habitat através de uma instigante e particular história evolucionária (Harris e Meyer, 2006). A agenesia dos terceiros molares é a forma mais comum de variação em dentes na espécie humana, e vem intrigando antropólogos há muito tempo. A agenesia destes dentes pode ser consequência de fatores ambientais ou genéticos, bem como da interação entre eles. O *PAX9* é um gene de desenvolvimento que codifica um fator de transcrição envolvido, entre outras funções, na cascata da formação dentária. Pereira e cols (2006) sugerem que, em humanos, variação no gene estaria restrita ao exon 3, sendo que uma mutação não sinônima nesse exon, *Ala240Pro*, estaria associada à agenesia dos terceiros molares. Turner (1987) sugere que existe um gradiente com um aumento de frequência da agenesia África/ Europa/ Ásia. Compilando dados da bibliografia atual foi construindo um mapa sintético com o programa UNIRAS A/S SOBERG (Denmark), onde se observa claramente esse gradiente da agenesia (figura 1). Esse fato seria resultado de diferenças ambientais (dietas, clima) ou consequência direta de alterações genéticas? E essas alterações, por sua vez, seriam resultado de processos estocásticos ou da ação da seleção natural?

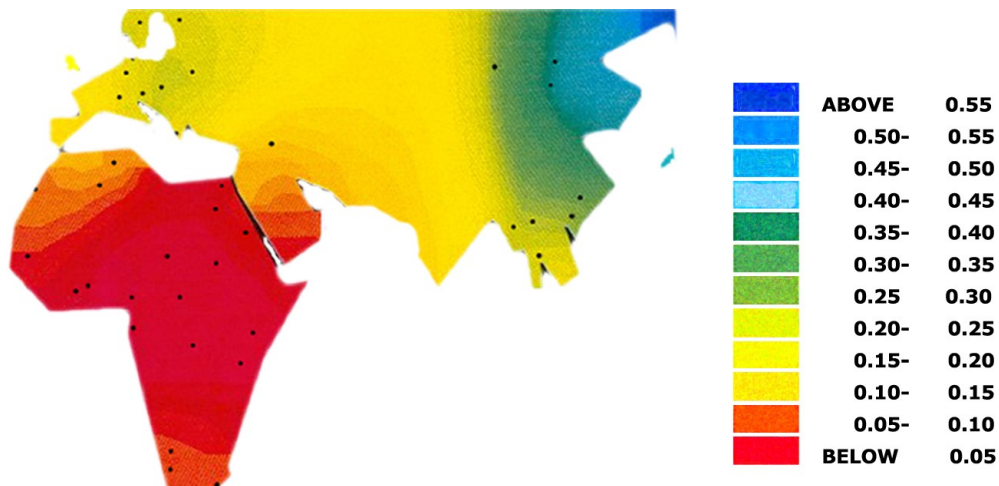


FIGURA 1. Mapa sintético ilustrando a distribuição da agenesia dos terceiros molares no Velho Mundo. Variação na frequência da agenesia compilados de: Turner ,1987; Irish,, 1993; Rozcová, 2004a e 2004b; Sutter, 2005.

A seqüência completa do exon 3 (138 bp), do gene *PAX9*, conjuntamente com as regiões intrônicas adjacentes 5' e 3' (232 pb e 220 pb, respectivamente), foi obtida a partir de 125 indivíduos de origem ameríndia, de dez tribos sul-americanas (N = 81), e de Esquimós Siberianos (N = 44). Seqüências adicionais de 15 europeus, 14 japoneses e 57 ameríndios da América do Sul, foram compiladas para comparação de um estudo prévio de nosso grupo (Pereira e cols, 2006). Além disso, dados de 14 Euro-americanos e 15 Afro-americanos foram obtidos através dos bancos de dados do HAPMAP (http://www.hapmap.org/cgi-perl/gbrowse/hapmap_B35/) e do dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>). Foram feitos testes de neutralidade (D de Tajima, D e F de Fu e Li) para determinar se houve desvios do modelo de neutralidade, utilizando-se os programas *DnaSP 4.10* e *Mega 4.0* (tabela 1). Como estes testes são fortemente influenciados pela demografia, foram feitas simulações, utilizando-se o programa *DFSC 1.1*, para discriminar a ação dos processos demográficos nas análises. A simulação permitiu observar que os valores negativos e significantes encontrados, considerando as amostras dos ameríndios Sul-americanos, eram consequência de processos populacionais, fato já bem documentado para esse grupo. Por outro lado, para Europeus e Esquimós a introdução de cenários demográficos envolvendo expansão populacional destaca o possível papel de seleção positiva sobre o exon 3.

TABELA 1. Testes estatísticos para detectar desvios no modelo de neutralidade

População	D de Tajima		Fu e Li's		Fu e Li's	
	(Não	D de Tajima	(Não -Codificadora)		(Exon 3)	
	-Codificador	(Exon 3)				
	a)		D*	F*	D*	F*
Sul Ameríndios	-2.13561*	-1.84693 *	-3.84723*	-2.13561*	-3.03182**	-3.08405**
Esquimós	0	0.46730	0	ND	0.69567	0.73072
Japoneses	0	-0.01865	0	ND	0.60275	0.49703
Europeus	-1.14700	1.09500	-1.68214	-1.76554	0.80615	1.02510
Euro-Americanos	0	1.05245	0	ND	0.81535	1.01741
Afro-Americanos	0	0	0	ND	0	ND
Total (menos Sul Ameríndios)	-0.95003	0.7049	-2.20545	-2.13561	0.63545	0.77585

Significância: * P<0,05; ** P<0,02 ND: Não determinado.

O alelo variante do polimorfismo *Ala240Pro* apresentou-se com uma distribuição variada entre os ameríndios da América do sul, estando também presente nos Esquimós, Asiáticos e Europeus. Entretanto não foi detectado entre os Afro-Americanos (tabela 2). Dessa forma é possível supor que o alelo *Pro* seja raro ou mesmo

ausente na África. Os resultados parecem indicar que uma sucessão de eventos, intimamente ligados à saída dos humanos modernos da África para os outros continentes, são responsáveis por esses achados. Nesse caso pode-se especular que populações africanas em algum momento foram alvo de uma forte pressão seletiva negativa relativa à variação nesse sítio-específico. Porém, logo após a saída do *Homo sapiens sapiens* da África, teria havido um relaxamento da pressão seletiva sobre o exon 3, o que permitiu que novas mutações ali permanecessem. Nesse contexto o alelo variante *Pro*, que está provavelmente ligado a agenesia do terceiro molar, teria sido selecionada positivamente em algum momento somente após a saída dos humanos modernos da África. As altas frequências deste alelo na Europa e Ásia corroboram essa sugestão. Posteriormente, quando os humanos entram na América, especificamente na América do Sul, outro

TABELA 2. Distribuição genotípica e alélica do *Ala240Pro* em 15 tribos Sul Ameríndias e outros

População	Ind.	Frequência Genotípica				Frequência		Referencia
		<i>Ala/Ala G/</i>	<i>Ala/Pro G/C</i>	<i>Pro/Pro G/G</i>	<i>G</i>	<i>C</i>		
<i>Sul</i>								
Aché	20	20 (100)	0	0	1	0	Pereira e cols.	
Apalaí	9	7 (78)	2 (22)	0	0.89	0.11	Presente estudo	
Arara	21	18 (86)	3 (14)	0	0.86	0.14	Presente estudo	
Bari	4	4 (100)	0	0	1	0	Pereira e cols.	
Cayapo	1	1 (100)	0	0	1	0	Presente estudo	
Galibi	7	6 (86)	1 (14)	0	0.86	0.14	Presente estudo	
Guarani	5	5 (100)	0	0	1	0	Pereira e cols.	
Jamamadi	5	2 (40)	2(40)	1(20)	0.6	0.40	Presente estudo	
Kaigang	20	15 (75)	5 (25)	0	0.88	0.12	Pereira e cols.	
Mekranoti	5	5(100)	0	0	1	0	Presente estudo	
Munducuru	8	7 (88)	1(12)	0	0.94	0.06	Presente estudo	
Tenharim	8	6 (75)	2 (25)	0	0.88	0.12	Presente estudo	
Warao	4	4 (100)	0	0	1	0	Pereira e cols.	
Xikrin	17	15 (88)	2 (12)	0	0.94	0.06	Presente estudo	
Yucpa	4	4 (100)	0	0	1	0	Pereira e cols.	
Total	138	119 (86)	18 (13)	1 (□1)	0.93	0.07		
<i>Esquimós</i>	44	21(48)	20(45)	3 (7)	0.70	0.30	Presente estudo	
<i>Chineses</i>	102*	29 (28)	45 (45)	28 (27)	0.50	0.50	Pan e cols	
<i>Japoneses</i>	14	11(79)	2 (14)	1 (7)	0.86	0.14	Pereira e cols.	
<i>Europeus</i>	365*	169 (46)	172 (47)	24 (7)	0.70	0.30	Pereira e cols.	
<i>Americanos</i>	15	15 (100)	0	0	1	0	HAPMAP/dbSN	
<i>Americanos</i>	14	10 (71)	0	4 (29)	0.71	0.29	HAPMAP/dbSN	

* Nos 350 europeus e nas amostras dos 102 chineses as frequências foram obtidas através de PCR RFLP.

cenário parece dominar a evolução do exon 3, seja pela perda inicial da possível vantagem adaptativa, ou por causa da impressionante ação da deriva genética na história dessas populações. O excesso de variantes raras

entre ameríndios indica claramente que em algum momento na história destas populações, fatores casuísticos possam ter sido preponderantes às restrições funcionais da proteína. Vale ressaltar que a vantagem adaptativa pode não estar diretamente relacionada ao número de dentes, mas sim a características associadas que foram determinantes no complexo adaptativo selecionado para climas diferentes daqueles encontrados na África.

Referências:

- Harris EE, Meyer D. 2006. The molecular signature of selection underlying human adaptations. *Yearb Phys Anthropol.* 49: 89-130.
- Irish, J. D. 1993. Biological affinities of late pleistocene through modern african aboriginal populations: the dental evidence. Ph.D. Dissertation, tempe: Arizona State University.
- Pereira TV, Salzano FM, Mostowska A, Trzeciak WH, Ruiz-Linares A, Chies JA, Saavedra C, Nagamachi C, Hurtado AM, Hill K, Castro-de-Guerra D, Silva-Jr WA, Bortolini MC. 2006. Natural selection and molecular evolution in primate PAX9 gene, a major determinant of tooth development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 5676-5681.
- Rozkovcová E, Marková M, Láník J, Zvárová J. 2004a. Development of third molar in the Czech population. *Prague Med Rep* 105: 391-422.
- Rozkovcová E, Marková M, Láník J, Zvárová J. 2004b. Agenesis of third molars in young Czech population. *Prague Med Rep* 105: 35-52.
- Sutter R. 2005. The prehistoric peopling of the South America as inferred from epigenetic dental traits. *Andean Past*, Vol. 7. Ithaca: Cornell University
- Turner CG II. 1987. Late Pleistocene and Holocene population history of East Asia based on dental variation. *Am J Phys Anthropol.* 73: 305-321.