

17. Ciencia, Tecnología e Innovación

El gen *HERC2* y su relación con el color del iris en la población bonaerense

Hohl, Diana María; Gutiérrez, María de los Ángeles, Catanesi, Cecilia Inés
dianamhohl@gmail.com; mariadla.gutierrez@gmail.com; ccatanesi@imbice.gov.ar
Instituto Multidisciplinario de Biología Celular IMBICE (CIC-UNLP-CONICET)
Universidad Nacional de La Plata

Resumen

La determinación genética del color de los ojos es de importancia en la identificación de personas, y por ello es utilizada en algunos países para la predicción del fenotipo de un individuo en el ámbito de la Genética Forense. Con este propósito, se ha desarrollado una técnica llamada IrisPlex, la cual tiene aplicación principalmente en poblaciones de origen europeo, mientras que las poblaciones mixtas, como la argentina, pueden presentar diferencias genéticas con las poblaciones estudiadas, por lo cual esta herramienta podría no ser útil. Para esclarecer esta problemática, hemos analizado, en una muestra de la población bonaerense, un fragmento del gen *HERC2*, el más importante de los incluidos en el IrisPlex, a la vez que cuantificamos el color de los ojos a partir de imágenes digitales con el programa ImageJ. Encontramos que la cuantificación del color respetó lo esperado para los distintos grupos de color azul, intermedio (verde) y marrón. A su vez, el polimorfismo de *HERC2* informado como más importante (rs12913832) resultó ser informativo para diferentes coordenadas del color, concordando en ciertos casos con lo visto en la bibliografía para la población europea. Estos resultados podrían ser de utilidad en el futuro para la determinación del color del iris a partir del material biológico en nuestra población.

Palabras clave: Color del iris, Genética Forense, Identificación de personas, Población bonaerense

Introducción

El color del iris es una característica notoria del aspecto físico de los individuos; es por ello que se utiliza en la descripción fenotípica de las personas, formando parte de un grupo de características llamadas *Externally Visible Characteristics* o EVC (Kayser *et al.*, 2009) junto con el color del pelo y la piel, la altura, la morfología facial y otras (Lim y Oh, 2013). Esta característica es utilizada en Genética Forense para la identificación de individuos a partir de muestras biológicas en escenas de crímenes, de restos óseos en fosas sin identificación, o de víctimas de desastres masivos, en ausencia de bases de datos o de individuos cuyo ADN pueda utilizarse para comparar. Es decir, constituye una ayuda para guiar la pesquisa de identificación de un individuo por medio del método de fenotipado forense por ADN (*Forensic DNA Phenotyping* o FDP) (Koops, 2008).

El iris es una estructura que está incluida en la parte anterior de las tunicas vascular e interna del ojo. Tiene la forma de un delgado disco ubicado en el plano frontal, justo por delante del cristalino, donde separa las cámaras posterior y anterior. Desde el punto de vista histológico, está formado por 4 capas: la lámina marginal

anterior, el estroma del iris, el epitelio anterior y el epitelio posterior. El epitelio anterior y el estroma que se encuentran por delante del mismo son las partes que juegan el rol más importante en la apariencia del color, mientras que el epitelio posterior parece no variar a pesar de la coloración del iris, ya que está muy pigmentado en todos los casos (Sturm y Frudakis, 2004). El pigmento presente en el iris es la melanina, y hay tres tipos de células en esta estructura que la poseen: los melanocitos estromales, las células epiteliales y las células presentadoras de antígenos en el estroma (Anderson *et al.*, 2008). Existen dos tipos principales de melanina: la eumelanina es un pigmento marrón a negro que está empaquetado en eumelanosomas ovoides (estriados), mientras que la feomelanina es un pigmento amarillo a rojo producido en feomelanosomas granulares inmaduros (Sturm y Frudakis, 2004).

Los principales factores que influyen en el color del iris son: la cantidad de pigmento melánico, el tipo de empaquetamiento de dicho pigmento (Sturm y Frudakis, 2004), el tipo de melanina presente en las células del epitelio pigmentado y en los melanocitos del estroma del iris, así como también las propiedades de absorción y dispersión de la

luz dada por componentes extracelulares en el estroma (Prota *et al.*, 1998) y el número de melanosomas (Hart *et al.*, 2013; Sulem *et al.*, 2007). El número de melanocitos parece no variar entre los distintos colores.

La melanina del epitelio posterior es esencialmente eumelanina, mientras que en el epitelio anterior y en el estroma del iris se encuentran ambos tipos y en menos cantidad. Una pigmentación feomelánica se asocia al color verde, la presencia de ambos pigmentos en alta concentración da lugar al color marrón y una baja cantidad de ambos produce el color azul (Prota *et al.*, 1998), debido al efecto de dispersión de Willis-Tyndall producido por los componentes extracelulares.

Para realizar estudios sobre este tema, una de las mayores dificultades encontradas es la clasificación de los iris según su color, ya que la categorización a simple vista puede dar lugar a subjetividades y errores, además de no permitir la reproducibilidad del método (Grigore y Avram, 2015). Uno de los métodos que evitan esta subjetividad es la cuantificación del color a partir de imágenes digitales del iris. Existen diversos espacios de color con los cuales se puede trabajar en este caso, siendo el CIE 1976 L* a* b* (CIELAB) uno de los cuales correlaciona los valores numéricos de color

consistentemente con la percepción visual humana, dando más información que una simple categorización en grupos de color azul, verde y marrón (Edwards *et al.*, 2015). Diferentes trabajos han encontrado genes asociados al color de los ojos en ciertas poblaciones, de los cuales el más importante es *HERC2*, el cual contiene un polimorfismo de Nucleótido Único (SNP, por sus siglas en inglés) que se ha incluido en un sistema utilizado para la predicción del color del iris llamado IrisPlex (Walsh *et al.*, 2011).

El gen *HERC2* (*HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2*) se localiza en el cromosoma 15 y pertenece a una familia de genes que codifica un grupo de proteínas grandes. El polimorfismo más importante asociado al color del iris se encuentra en el intrón 86 de este gen, en una zona que potencia al gen *OCA2*, que se encuentra aguas abajo del mismo. Se cree que este SNP surgió a partir de una mutación fundadora al Este o Noroeste del Mar Negro hace unos 6.000 a 10.000 años, dando origen al color de ojos azul en humanos (Eiberg *et al.*, 2008).

Dicha mutación dio lugar a un SNP (rs12913832) el cual, al presentar el alelo G (derivado), disminuye la expresión de *OCA2*, produciendo una disminución en la

síntesis de melanina y por ende una coloración más clara respecto a la presentada en presencia del alelo A (ancestral).

A pesar de que la variación genética subyacente al color de iris es distinta según la población estudiada, la mayoría de los estudios genómicos están basados en individuos de ancestría únicamente europea. A su vez, las poblaciones de distinta procedencia étnica y geográfica pueden portar diferentes variantes alélicas, por ende las variaciones que se han estudiado podrían diferir según la población. Se sabe que la mayor ocurrencia de colores de iris claros se encuentra casi exclusivamente en la población de Europa y en individuos con ancestros provenientes de dicho continente (Sturm y Frudakis, 2004). Sin embargo, aún falta información sobre las frecuencias de marcadores relacionados con el color del iris en otras poblaciones del mundo, especialmente en aquellas de etnia mixta (Beleza *et al.*, 2013).

La población argentina es étnicamente mixta, y esto se refleja en la composición genética, ya que presenta un 65% europeo, 31% nativo americano y 4% africano para marcadores autosómicos (Avena *et al.*, 2012). Esto pone de manifiesto la necesidad de analizar a la población argentina

respecto de las variantes asociadas al color de los ojos para evaluar la posible aplicación de los resultados obtenidos en otras poblaciones en cuanto a la determinación genética de este fenotipo.

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es describir la variación del gen *HERC2* y su relación con el color del iris en la población bonaerense. Como objetivos específicos, planteamos la caracterización de 7 SNPs de dicho gen en una muestra de la población bonaerense y la descripción de la variación del color de los ojos en esos mismos individuos. Posteriormente, proponemos la evaluación de la asociación del polimorfismo más determinante del color del iris en la población estudiada y la comparación de los resultados obtenidos con datos de la bibliografía presentados para otras poblaciones del mundo.

Materiales y Métodos

Realizamos la toma de muestra a 84 individuos nacidos en la provincia de Buenos Aires o con al menos 5 años de residencia en la misma, entre 18 y 60 años de edad. La cota de edad se debe, por un lado, a que los individuos deben ser mayores de edad según la propuesta

aceptada por el Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular IMBICE, y por otro lado a que la edad avanzada es un factor que puede influir en el color del iris debido a un cambio en los melanosomas (Sun *et al.*, 2014). Previamente al muestreo se solicitó a cada participante voluntario la lectura de una cartilla de información y la firma de un consentimiento informado. La toma de muestra consistió en un buche de saliva con agua mineral, conservado con etanol 96° y luego sometido a la extracción de ADN por un protocolo estándar con cloruro de litio y proteinasa K (Gemmel y Akiyama, 1996). Además, procedimos a tomar fotos de ambos ojos, mediante una lámpara de hendidura acoplada a una cámara fotográfica Canon Eos rebel T3i réflex (en cooperación con la doctora María de los Ángeles Gutiérrez) en el laboratorio del Programa Ambiental de Extensión Universitaria PAEU de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata.

Luego de cuantificar las muestras de ADN, amplificamos por la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa = PCR por sus siglas en inglés) una zona del gen *HERC2* que comprende 1564 pares de

bases. Luego realizamos electroforesis en geles de agarosa al 1,8% para verificar la amplificación y una purificación con polietilenglicol para posterior secuenciación de los fragmentos. Analizamos las secuencias obtenidas mediante el software MEGA 5.2.

Cuantificamos el color de los iris a partir de las imágenes digitales con el software Fiji (ImageJ, en cooperación con el doctor Nicolás de Francesco, IMBICE), obteniendo las coordenadas del espacio de color CIELAB y el valor de Delta E. Las coordenadas de este espacio de color son: L* o luminosidad (el valor 0 indica poco luminoso, el 100 el más luminoso), a* es la coordenada rojo-verde, y b* es la coordenada azul-amarillo. A su vez, este tipo de cuantificación permite calcular el Delta E, que es el valor de la diferencia de color entre la zona pupilar (interna) y ciliar (externa) del iris, para valorar la heterocromía central de los individuos.

Utilizamos el software GraphPad prism 6 para comparar los valores de color obtenidos con la categorización dada a simple vista de los iris (grupos marrón, verde y azul) y con la presencia/ausencia de heterocromía central. Evaluamos la distribución de las muestras (test de D'Agostino y Pearson), comparamos sus

desvíos estándar (test de Bartlett) y realizamos los análisis estadísticos para comparar las medianas.

Usamos el software PLINK para determinar las frecuencias alélicas de los marcadores y el ajuste al Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Con el STATA 12 analizamos la asociación genotipo-fenotipo mediante una regresión sobre la mediana.

Resultados y Discusión

Respecto a los valores del espacio de color CIELAB obtenidos, la coordenada L^* en el grupo de ojos azules tuvo el valor mínimo más alto de las 3 categorías de color como era esperado, por ser los colores más claros; luego le siguió el valor mínimo de los intermedios y, por último, el valor más bajo correspondió a los marrones. La cota superior fue similar en los 3 y el rango mayor fue el de los marrones, probablemente por la presencia simultánea de ojos marrones claros y oscuros.

La media de la coordenada L^* fue mayor para los azules (70,39 para el iris ciliar, 72 para el iris pupilar), intermedia para los verdes (67,16 ciliar, 63,83 pupilar) y menor para los marrones (54,33 ciliar, 54,50 pupilar), tal como se esperaba.

Para el L^* ciliar, la distribución de la muestra resultó normal, pero los desvíos estándar fueron diferentes, por lo que se realizó un test de Kruskal-Wallis para la comparación de medianas. Para el L^* pupilar, la distribución de la muestra resultó no normal para el grupo de ojos marrones y los desvíos estándar fueron diferentes, por lo que se realizó el mismo test que para L^* ciliar. En ambos casos, las medianas fueron significativamente diferentes excepto para los L del iris ciliar de los colores azules e intermedios (figuras 1 y 2; test de Dunn, $\alpha=0,05$). Esto último podría explicarse porque en ambos grupos la parte externa del iris es de color claro, lo que no siempre ocurre en la zona pupilar en el caso de los intermedios.

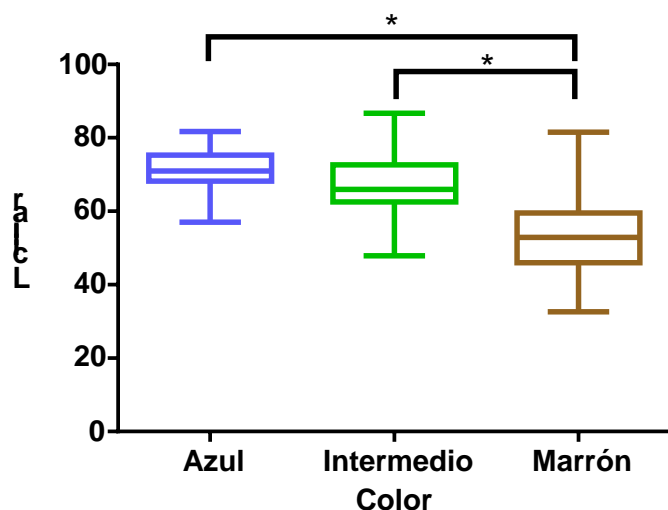


Figura 1: Valores de L* ciliar para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p < 0,05$)

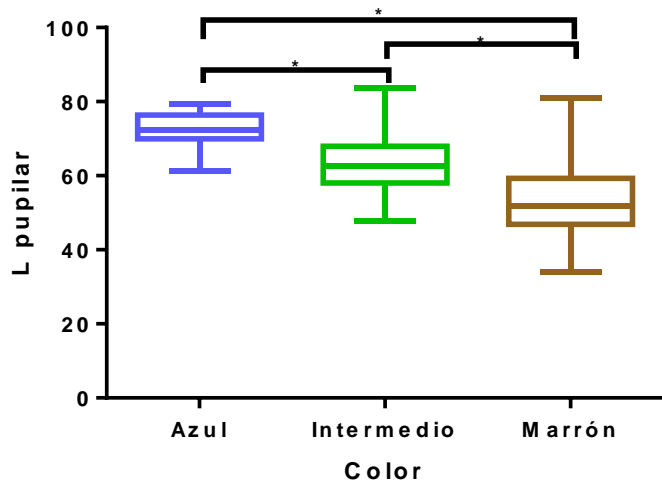


Figura 2: Valores de L* pupilar para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p < 0,05$)

Respecto a la coordenada a^* , los valores más bajos correspondieron a mayor cantidad de verde, y los más altos al rojo. Se observaron los valores más bajos para los colores azules. Los intermedios y marrones tuvieron un valor máximo similar, de los cuales el valor mínimo correspondió

a los intermedios (más verde). Por otro lado, el valor mínimo más alto correspondió a los marrones, probablemente por una mayor presencia de feomelanina (pigmento rojo). Las medias de a^* (pupilar y ciliar) para los azules fueron menores, luego siguieron las medias de los intermedios y por último las

de los marrones, como era esperado. Las medias para los valores de a^* del iris pupilar fueron mayores; esto se debería a la presencia de heterocromías centrales.

Para a^* ciliar, la distribución de la muestra resultó no normal para el grupo de los azules y los desvíos estándar fueron diferentes. Para a^* pupilar, la distribución de la muestra fue no normal para el grupo de ojos intermedios y los desvíos estándar fueron diferentes. Por ello, se realizó un test de Kruskal-Wallis para la comparación de

medianas en ambos casos. A partir de estos análisis, se determinó que tanto para iris ciliar como pupilar las medianas fueron significativamente diferentes excepto para los a^* del iris pupilar de los colores marrones e intermedios (figuras 3 y 4; test de Dunn, $\alpha=0,05$); esto último podría explicarse porque los intermedios poseen más rojo en la parte pupilar, lo cual es esperable dadas las heterocromías de los colores intermedios.

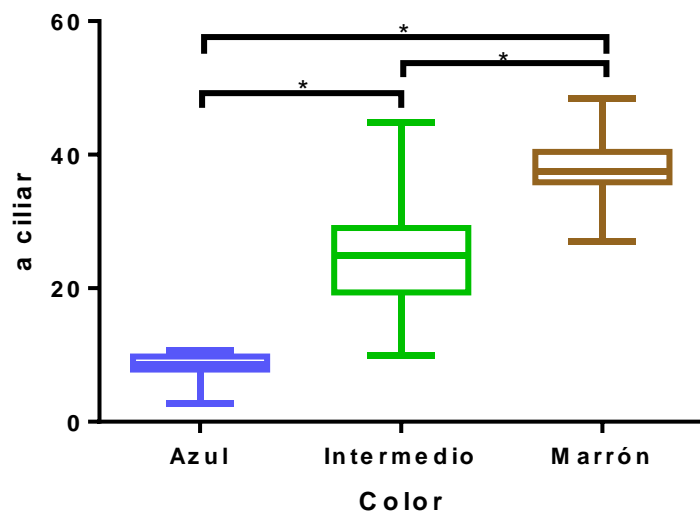


Figura 3: Valores de a^* ciliar para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p<0,05$)

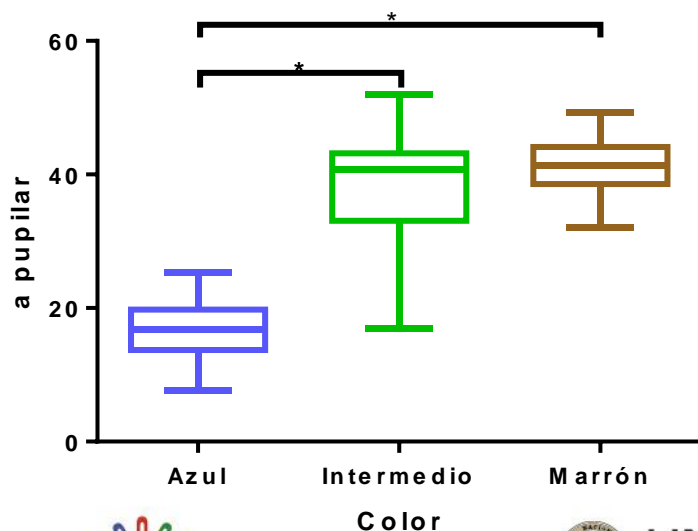


Figura 4: Valores de a^* pupilar para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p<0,05$)

Para el caso de la coordenada b^* , los valores más bajos correspondieron a una mayor cantidad de azul, y los más altos al amarillo. El rango para los ojos azules resultó el más acotado y con los valores más bajos, como era esperado, mientras que la media en este grupo, tanto para el iris ciliar como para el iris pupilar, fue la menor de las tres. El valor máximo de intermedios y marrones fue similar.

Para b^* ciliar y pupilar, la distribución de la muestra resultó normal pero los desvíos estándar fueron diferentes, por lo que se realizó un test de Kruskal-Wallis para la comparación de medianas. Así se determinó que tanto para iris ciliar como pupilar, las medianas fueron significativamente diferentes (figuras 5 y 6; test de Dunn, $\alpha=0,05$), siendo la mediana del grupo de intermedios la mayor en ambos casos.

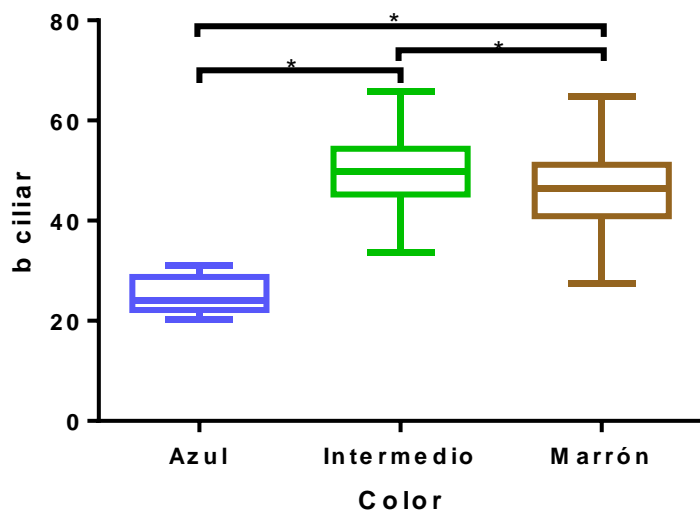


Figura 5: Valores de b^* ciliar para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p<0,05$)

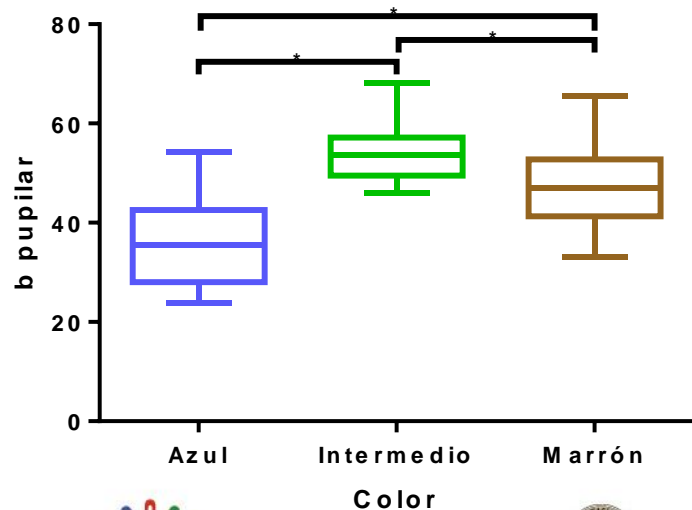


Figura 6: Valores de b^* pupilar para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p<0,05$)

Por último, con respecto a Delta E, al separar entre muestras con heterocromía y sin heterocromía, se vio que la mayoría de los colores intermedios (verdes) presentaban heterocromía pero la mayoría de los marrones no. Por otro lado, los azules se repartieron como 3 individuos (6 imágenes) con heterocromía y 4 individuos (8 imágenes) sin heterocromía. La media de Delta E para el grupo sin heterocromía fue de 6,88 (rango de 0,89 a 19,97) mientras

que para el grupo con heterocromía, la media fue de 16,80 (rango de 6,64 a 29,38). La distribución de este valor en el grupo de los individuos sin heterocromía no fue normal, por lo que se realizó un test de Mann-Whitney. El análisis estadístico resultó en una mediana diferente para ambos grupos (figura 7), demostrando que la medida de Delta E podría determinar presencia o ausencia de heterocromía central.

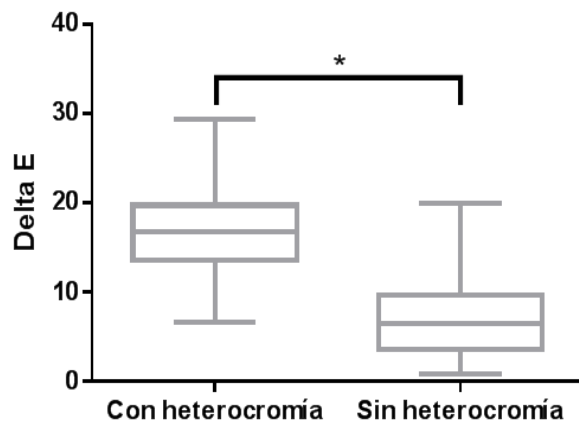


Figura 7: Valores de Delta E para los grupos con heterocromía y sin heterocromía. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p < 0,05$)

La media de Delta E para los ojos azules y para los intermedios fue similar y mayor a la del grupo de ojos marrones, dejando en claro que la presencia de heterocromías es más común en los ojos claros. La distribución de la muestra resultó no normal para el grupo de ojos marrones y los desvíos estándar fueron diferentes, por lo que se realizó un test de Kruskal-Wallis. A

partir de este análisis, las medianas resultaron significativamente diferentes (figura 8; test de Dunn, $\alpha = 0,05$) excepto al comparar entre el grupo de azules e intermedios, concluyendo así que la presencia de heterocromía no permite distinguir entre muestras de esos grupos.

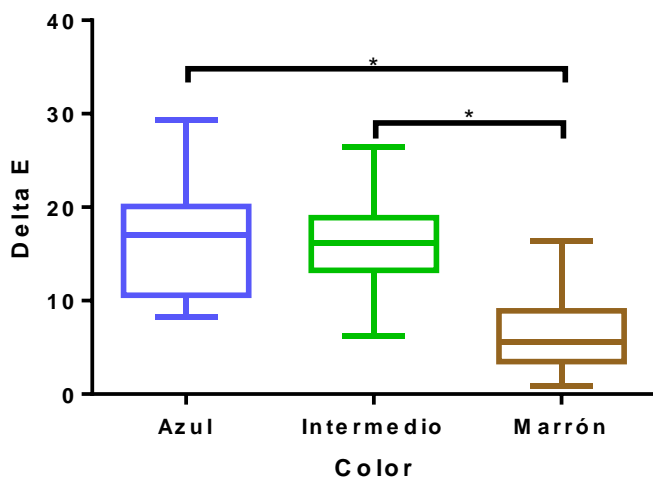


Figura 8: Valores de Delta E para los grupos de color azul, intermedio y marrón. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los grupos de colores ($p < 0,05$)

Respecto de la variación genética, en el análisis de frecuencias alélicas de los SNPs hallados, el rs540317226 presentó una MAF (frecuencia del alelo minoritario) de 0,01205, el rs148711194 de 0,006024, el rs6497271 de 0,04217 y el rs4778245 de 0,0241, todos ellos aún no referidos en la bibliografía en asociación con el color del iris, y con sus MAFs menores a 0,05, siendo por ello poco variables. Por otro lado, el SNP rs7183877 presentó una MAF de 0,2108, el rs1129038 de 0,3614 (el alelo T de este SNP está asociado a color de iris azul – Visser *et al.*, 2012-) y el rs12913832 de 0,3494 (el alelo G de este SNP es el asociado a color azul – Sturm, 2008; Visser *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2009 – y el más importante del IrisPlex - Walsh *et al.*, 2011-). Se evaluó la asociación genotipo-fenotipo para el SNP incluido en el IrisPlex

obteniendo, en primer lugar, una asociación ($p < 0,05$) de este polimorfismo con un aumento de Delta E y de L^* y una disminución de a^* y b^* (éste último ciliar) en individuos homocigota G, lo cual concuerda con lo hallado en bibliografía (Edwards *et al.*, 2015) ya que el alelo G se asocia a color de ojos azules. Al presentarse como heterocigota (AG), se asocia con aumento de Delta E y de L^* y disminución de a^* ciliar. El caso del homocigota A se asocia con disminución de Delta E y de L^* y un aumento de a^* y b^* ciliar, lo que se vería en los colores de ojos oscuros. No se halló asociación entre el SNP rs12913832 y el valor de b^* pupilar ($p > 0,05$).

Conclusiones

En primer lugar, los resultados obtenidos con la técnica de medición de color

utilizando el software Fiji concordaron con lo esperado y con lo reportado en la bibliografía (Edwards *et al.*, 2015). Dicha técnica podría aplicarse en la diferenciación sin subjetividades de los grupos de color, excepto en el caso de utilizar la coordenada de L^* ciliar entre azul e intermedio, a^* pupilar entre intermedio y marrón, y Delta E entre azul e intermedio.

Respecto al gen *HERC2*, la población analizada presentó 5 polimorfismos que no se encuentran en la bibliografía asociados al color del iris, de los cuales 4 resultaron ser poco variables, lo que requiere ser comprobado en un mayor tamaño muestral a fin de corroborar esta observación o, por el contrario, hallar un mayor número de individuos con estas variantes que incremente su frecuencia. Los SNPs encontrados informados en la bibliografía (rs1129038 y rs12913832) fueron variables en nuestra muestra poblacional, siendo de gran interés el último ya que es el más importante de los utilizados en otros países para la predicción del color del iris. Respecto a esto, la asociación encontrada entre dicho SNP y las distintas coordenadas del espacio de color CIELAB se corresponde con lo esperado y en ciertos casos con lo encontrado en la bibliografía (Edwards *et al.*, 2012, 2015) para trabajos

que emplean este mismo espacio en otras poblaciones.

Como perspectivas a futuro, se apunta a incrementar el tamaño muestral a fin de confirmar estos resultados, extendiendo el estudio hacia un enfoque poblacional en el cual evaluaremos la posible relación entre el origen étnico de los individuos y la presencia de determinados SNPs. Otros objetivos a futuro incluyen la comparación con otros métodos de cuantificación de color y una posible aplicación forense del método presentado, conjuntamente con un mayor número de SNPs informativos para nuestra población.

Bibliografía

- Anderson, M. G., Hawes, N. L., Trantow, C. M., Chang, B., y John, S. W. M. (2008). Iris phenotypes and pigment dispersion caused by genes influencing pigmentation. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 21(5), 565-578.
- Avena, S. A., Via M., Ziv E., Pérez-Stable E. J., Gignoux C. R., Dejean C. B., et al. (2012). Heterogeneity in genetic admixture across different regions of Argentina. *PLOS ONE* 7(4), e34695.

- Beleza, S., Johnson, N. A., Candille, S. I., Absher, D. M., Coram, M. A., Lopes, J., et al. (2013). Genetic architecture of skin and eye color in an African-European admixed population. *PLOS Genetics*, 9(3), e1003372.
- Edwards, M., Cha, D., Krithika, S., Johnson, M., Cook, G., y Parra, E. J. (2015). Iris pigmentation as a quantitative trait: Variation in populations of European, East Asian and South Asian ancestry and association with candidate gene polymorphisms. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 29(2), 141-162.
- Edwards, M., Gozdzik, A., Ross, K., Miles, J., Y Parra E. J. (2012). Technical note: Quantitative measures of iris color using high resolution photographs. *American Journal of Physical Anthropology*, 147(1), 141-149.
- Eiberg, H., Troelsen, J., Nielsen, M., Mikkelsen, A., Mengel-From, J., Kjaeret, K., et al. (2008). Blue eye color in humans may be caused by a perfectly associated founder mutation in a regulatory element located within the HERC2 gene inhibiting OCA2 expression. *Human Genetics*, 123(2), 177-187.
- Gemmel, N., y Akiyama, S. (1996). An efficient method for the extraction of DNA from vertebrate tissues. *Trends in Genetics*, 12(9), 338-339.
- Grigore, M., y Avram, A. (2015). Iris colour classification scales - then and now. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 59(1), 29-33.
- Hart, K. L., Kimura, S. L., Mushailov, V., Budimlija, Z. M., Prinz, M., y Wurmbach, E. (2013). Improved eye- and skin-color prediction based on 8 SNPs. *Croatian Medical Journal*, 54(3), 248-256.
- Kayser, M., y Schneider, P. M. (2009). DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: Motivations, scientific challenges, and ethical considerations. *Forensic Science International: Genetics*, 3(3), 154-161.
- Lim, J. E., y Oh, B. (2013). Allelic frequencies of 20 visible phenotype variants in the Korean population. *Genomics and Informatics*, 11(2), 93-96.
- Liu, F., van Duijn, K., Vingerling, J., Hofman, A., Uitterlinden, A. G., Janssens, A. C., et al. (2009). Eye color and the prediction of complex phenotypes

- from genotypes. *Current Biology*, 19(5), R192-R193.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., et al. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575.
- Sulem, P., Gudbjartsson, D. F., Stacey, S. N., Helgason, A., Rafnar, T., Magnusson, K. P., et al. (2007). Genetic determinants of hair, eye and skin pigmentation in Europeans. *Nature Genetics*, 39(12), 1443-1452.
- Sturm, R. A., y Frudakis, T. N. (2004). Eye colour: Portals into pigmentation genes and ancestry. *Trends in Genetics*, 20(8), 327-332.
- Sturm, R. A., Duffy, D. L., Zhao, Z. Z., Leite, F. P. N., Stark, M. S., Hayward, N. K., et al. (2008) A single SNP in an evolutionary conserved region within intron 86 of the HERC2 gene determines human blue-brown eye color. *American Journal of Human Genetics*, 82(2), 424-431.
- Sun, H. P., Lin, Y., y Pan C. W. (2014). Iris color and associated pathological ocular complications: A review of epidemiologic studies. *International Journal of Ophthalmology*, 7(5), 872-878.
- Visser, M., Kayser, M., y Palstra, R. (2012). HERC2 rs12913832 modulates human pigmentation by attenuating chromatin-loop formation between a long-range enhancer and the OCA2 promoter. *Genome Research*, 22(3), 446-455.
- Prota, G., Hu, D., Vincensi, M., McCormick, S. A., Napolitano, A. (1998). Characterization of melanins in human irides and cultured uveal melanocytes from eyes of different colors. *Experimental Eye Research*, 67(3), 293-299.
- Walsh, S., Liu, F., Ballantyne, K., van Oven, M., Lao, O., y Kayser, M. (2011). IrisPlex: A sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Science International: Genetics*, 5(3), 170-180.

Agradecimientos

Agradecemos al doctor Jorge Santiago López Camelo (codirector de tesis de Hohl) por su aporte en los análisis estadísticos y al doctor Nicolás de Francesco por su

aporte en la cuantificación del color a partir de imágenes.

Financiamiento

Proyecto UNLP 11/N824 Diversidad genética de la región no pseudoautosómica del cromosoma X humano en la población del centro y noreste de la República Argentina.

PIP 2015-2017 (CONICET) -0930