

Datos Genéticos Forenses para 20 Marcadores de Identificación Humana de la Población de Panamá

Lic. Erick Espinosa

Laboratorio de Análisis Biomolecular
Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses
Correo electrónico: erick.espinosa@imelcf.gob.pa

Fecha de recepción: 10-jul-20

Fecha de aceptación: 5-sep-20

Resumen

En Panamá, el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses a través del Laboratorio de Análisis Biomolecular realiza las pruebas de ADN en casos de investigación y casos de filiación utilizando la metodología conocida como Huella Genética para lo cual requiere de estudios de la Población en Panamá actualizados y que proporcionen los datos forenses necesarios para evaluar la importancia de la evidencia de ADN de forma científica en función de cálculos probabilísticos. El objetivo de la investigación es la determinación de parámetros genéticos estadísticos poblacionales y de interés forense para 20 marcadores autosómicos STR de identificación humana en la población de Panamá. El estudio es una investigación cuantitativa con un diseño no experimental y un tipo de estudio descriptivo, explicativo. Se analizan 267 muestras de manchas de sangre en papel FTA de individuos de la población panameña seleccionadas evitando coincidencias entre primer y segundo apellido y procesadas amplificando 20 loci STR correspondientes al protocolo comercial PowerPlex® 21 (corporación Promega) en un termociclador GeneAmp 9700. Seguidamente la separación y detección de los fragmentos de ADN amplificados se realizó mediante electroforesis capilar en el analizador genético ABI 3500 y el programa GeneMapper IDX-v1.2 validándose los 267 perfiles genéticos, y con el programa PowerStat v1,2 se obtuvo los datos de frecuencia alélica, probabilidad de coincidencia, poder de discriminación y probabilidad de exclusión de cada uno de los 20 loci STR autosómicos. Utilizando el programa Arlequín se determina que los datos cumplen con equilibrio de Hardy – Weinberg indicativo que la distribución de frecuencias está dentro de lo esperado. Una comparación con frecuencias de estudios de poblaciones cercanas como Colombia, Costa Rica y con las frecuencias de Hispanos de Estados Unidos muestra que hay distribuciones similares de alelos.

Palabras claves: marcador genético, frecuencias alélicas, equilibrio Hardy – Weinberg.

Abstract

In Panama the Institute of Legal Medicine and Forensic Science, through the Laboratory of Biomolecular Analysis, performs the DNA test in forensic investigations and kinship cases using the DNA fingerprint methodology. For this, it is required to have updated Genetic

Population Studies from the Panamanian population which provide the forensic data necessary to evaluate the importance of a DNA evidence with the proper scientific approach using probabilistic calculations. The objective of the research is the determination of populational statistical genetic parameters and of forensic interest for 20 autosomal markers STR of human identification in the population of Panama. The study is a quantitative investigation with a non-experimental design and a descriptive, explanatory type of study. Analyzes 267 samples of blood stains on FTA paper from selected individuals from the population of Panama, avoiding coincidences between first and second surnames and processed by amplifying 20 STR loci corresponding to the commercial protocol PowerPlex® 21 kit (Promega Corporation) in a GeneAmp 9700 thermal cycler. The separation and the detection of the amplified DNA fragments was carried out by capillary electrophoresis in the ABI 3500 genetic analyzer and the GeneMapper IDX-v1.2 program, validating the 267 genetic profiles, and with the PowerStat v1.2 program and the GENEPOP program data were obtained for allele frequency, coincidence probability, discrimination power and exclusion probability of each of the 20 autosomal STR loci. The results showed that the data complies with the Hardy - Weinberg equilibrium. A comparison with previous frequencies of 15 markers of the population of Panama, and with studies of nearby populations such as Colombia, Costa Rica and Hispanics from the United States shows that there are no significant differences.

Keywords: genetic marker, allele frequency, Hardy – Weinberg equilibrium.

Introducción

El Ácido Desoxi-Ribonucleico (ADN) es la molécula compuesta de secuencias de nucleótidos que codifican las instrucciones para el desarrollo y funcionamiento de todo organismo y es el responsable de la herencia biológica o transmisión de características genéticas. El ADN está organizado en estructuras denominadas cromosomas y las instrucciones están almacenadas en unidades de información conocidas como genes que ocupan posiciones específicas (o Locus) en los cromosomas. Una unidad (gen), para una misma posición (locus), puede tener distintas formas posibles (polimórfico) y cada versión o forma se conoce como alelo¹ (Butler, 2010).

La gran mayoría del ADN es igual en todas las personas (99.7 % del genoma humano), pero hay regiones o secuencias que presentan variaciones y además son heredables por lo que tienen aplicación para individualizar personas o identificar relaciones biológicas y son utilizadas como marcadores genéticos para identificación humana¹ (Butler, 2010).

En Panamá el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses (IMELCF) es la entidad pública con la misión de brindar asesoría científica y técnica a la administración de justicia y quien, a través del Laboratorio de Análisis Biomolecular y el uso de la Genética, para el año 2008, ya realiza las pruebas de ADN en casos de investigación forense y casos de filiación² (Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses [IMELCF], 2009).

Al realizar un análisis de ADN y obtener un perfil genético e interpretar los resultados, son

necesarios los datos genéticos forenses de la población para, asignar estadísticamente, un valor cuantitativo a la prueba de ADN (Scientific Working Group on DNA Analysis Methods [SWGAM] 2017) y poder determinar, por ejemplo, las probabilidades de que el perfil genético en una evidencia sea de una persona determinada o la probabilidad de que un sujeto sea el padre biológico de un bebe.

El análisis de ADN para identificación humana de mayor utilización en la comunidad científica y utilizado actualmente en el IMELCF es la metodología generalmente conocida como "Huella genética" la cual inicialmente correspondía a la utilización de la técnica de VRNT y enzimas de restricción y que ha evolucionado y actualmente consiste en la aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés "Polymerase Chain Reaction") y la electroforesis capilar para la separación de fragmentos de ADN conocidos como ADN-microsatélites. El ADN microsatélites consiste en secuencias de ADN con polimorfismo de tamaño conforme a repeticiones cortas de nucleótidos en tándem (STR del inglés "Short Tandem Repeats") (Giardina, 2013).

El estudio genético de una población nos brinda información sobre las características y composición de genética de un individuo, de la población entera, así como los cambios de la población a través de las generaciones lo cual permite determinar la presencia o frecuencia de estos marcadores genéticos útiles para la identificación humana (Hernández-Rodríguez, 2014).

Los datos genéticos utilizados en el Laboratorio de Análisis Biomolecular de Panamá y en el ámbito forense (Planz, 2004) son los siguientes:

- La frecuencia alélica: es la presencia o proporción de los alelos de un marcador genético en la población determinada.
- Frecuencia alélica mínima: corresponde a la frecuencia del alelo menos común en un determinado locus de una población y proporciona información para diferenciar entre variantes frecuentes y variantes poco comunes dentro de la población.
- Probabilidad de coincidencia: se define como la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar tengan genotipos o perfiles genéticos idénticos en un sistema dado o en una serie de sistemas genéticos y es también conocida como probabilidad de matching, o también "Random Match Probability".
- Poder de discriminación: se define como la probabilidad de que dos individuos tomados al azar, no relacionados, que se encuentran en la misma población puedan ser diferenciados mediante el uso de un sistema genético.
- Probabilidad de exclusión: se define como la probabilidad de excluir a un padre que ha sido tomado al azar de la población, es decir la probabilidad de que un sistema genético excluya a un presunto padre, este parámetro permite establecer la proporción de individuos falsamente incluidos como padres.
- Frecuencia de heterocigotos: probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean diferentes.
- Frecuencia de Homocigotos: es la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de la población sean iguales.

- Contenido de información polimórfica (PIC): ofrece una medida del grado de información proporcionado por un determinado sistema genético o microsatélite (Botstein, 1980).

Estos parámetros pueden variar con el tiempo debido a que variaciones de la distribución de los alelos pueden ocurrir de una generación a otra debido a eventos genéticos al azar conocido como deriva génica (Rotimi, 2014) por lo cual es recomendable mantener estudios genéticos poblacionales actualizados. En Panamá, el Consorcio Genómica, realizó un estudio de población de 15 marcadores en el año 2008 para la creación del laboratorio de Análisis Biomolecular del IMELCF y es pertinente realizar nuevos estudios poblacionales incluyendo los nuevos marcadores de identificación humana que se utilizan en la en el laboratorio de Análisis Biomolecular y en concordancia con los sistemas extendidos como el CODIS de FBI que utiliza 20 marcadores de identificación humana (Hares, 2015). Igualmente, pertinente es realizar comparaciones con estudios de poblaciones geográficamente cercanas o con características genéticas que se esperen sean similares.

Marco Metodológico

El objetivo de la investigación es la determinación de parámetros genéticos estadísticos poblacionales y de interés forenses para 20 marcadores autosómicos STR de identificación humana en la población de Panamá.

Esta es una investigación cuantitativa con un diseño no experimental y un tipo de estudio descriptivo, explicativo, en la cual se realiza la recopilación de datos producto del análisis de ADN y se utilizan programas bioinformáticos y de estadística para determinar parámetros genéticos poblacionales.

La población consiste en 267 muestras correspondientes a 131 individuos masculinos y 136 individuos femeninos de la población de Panamá comprendientes a las provincias de Bocas del Toro, Coclé, Colón, Chiriquí, Darién, Herrera, Los Santos, Panamá (incluyendo Panamá Oeste) y Veraguas. Las muestras se obtuvieron de la base y banco de datos de ADN creada por la Ley 80 de 1998, y se seleccionaron de manchas de sangre recolectadas entre el año 2012 y 2013 para pruebas de ADN en casos de Paternidades, con consentimiento informado de su uso de forma anónima en estudios de población. (Ver imagen #1 "Hoja de registro de Toma de Muestra para Prueba de ADN").

El criterio de selección de muestra corresponde a la clasificación de las muestras, evitando coincidencias entre primer y segundo apellido para procurar el uso de individuos no relacionados y evitar una proporción favorable de alelos entre personas con vínculo biológico y que la población sea representativa de alelos al azar lo cual es verificable con la prueba del Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Imagen N°1: "Hoja de registro de Toma de Muestra para Prueba de ADN".

	INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES SUBDIRECCIÓN DE CRIMINALÍSTICA LABORATORIO DE ANALISIS BIOMOLECULAR CLAYTON, CIUDAD DEL SABER, EDIFICIO 222, PLANTA BAJA TEL. 507-3200 FAX: 317-1065						
	HOJA DE REGISTRO DE TOMA DE MUESTRA PARA PRUEBA DE ADN	<table border="1"> <tr> <td>Versión</td> <td>01</td> </tr> <tr> <td>Vigencia</td> <td>01/01/13</td> </tr> <tr> <td>Página</td> <td>1 de 1</td> </tr> </table>	Versión	01	Vigencia	01/01/13	Página
Versión	01						
Vigencia	01/01/13						
Página	1 de 1						
No. IDENTIFICACIÓN: _____							
Fecha: _____ Nombre: _____ Apellido: _____ Cédula / Pasaporte: _____ Lugar de Nacimiento: _____ Fecha de Nacimiento: _____ Grupo Poblacional: _____ Transfusiones recientes: _____ Enfermedades: _____							
	Índice Izquierdo	Índice Derecho					
<p>Yo _____ con documento de identidad No. _____, acepto donar _____ muestra de sangre al Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses para que se extraiga el ADN con fines exclusivamente identificatorios y con estricta reserva de mi identidad. El perfil genético extraído de mi sangre será almacenado en una base de datos bajo custodia del IMELCF quien está obligado a la confidencialidad de la información y cuya única difusión científica podrá ser la referente a estadísticas anónimas (frecuencia de perfiles genéticos).</p>							
Toma de Muestra Realizada por: _____ Lugar de la Toma de muestra: _____ Tipo de Muestra Tomada: _____ Fecha: _____							
Muestra recibida en el laboratorio por: Fecha: _____ Observaciones: _____							

Fuente: Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, 2013.

El formato de toma de muestra para prueba de ADN garantiza la protección de la información de las personas.

Luego de seleccionadas las muestras las mismas son recodificadas de forma tal que se proporcione la cualidad de anonimato a las muestras. Para este estudio no se considera la identidad étnica de las muestras.

Las variables del estudio son los alelos que se observen de los perfiles genéticos (electroferogramas) que se obtienen de las muestras seleccionadas amplificadas en el termociclador GeneAmp9700 y detectadas en el equipo analizador genético ABI 3500.

Con la observación de los alelos de los perfiles genéticos se realizan los cálculos de datos definidos en el programa PowerStats v1.2.

- Frecuencia alélica: observaciones de un alelo entre cantidad total de alelos
- Frecuencia alélica mínima: $1 - \alpha$ $\alpha=0.05$ N =muestras
- Probabilidad de coincidencia: Sumatoria de los cuadrados de las frecuencias
- Poder de discriminación: $1 - \text{probabilidad de coincidencia}$
- Frecuencia de Homocigotos: Suma de cuadrados de las frecuencias de los alelos
- Frecuencia de heterocigotos: 1 menos la frecuencia de homocigotos
- Probabilidad de exclusión: $He^2 + (1 - (2(He)(Ho))^2)$ donde He es a frecuencia de los heterocigotos y Ho corresponde a la frecuencia de homocigotos
- Contenido de información polimórfica (PIC): equivale a Uno (1) menos la sumatoria de los cuadrados de las frecuencias menos la sumatoria de cuadrados de frecuencias al cuadrado más la sumatoria de las frecuencias.

Procedimiento

El procedimiento inicia con la toma de muestras biológicas por punción digital mediante lanceta estéril y la sangre se recolectó en papel especializado FTA Whatman. Utilizando un “micropunch” marca Harris, se realizaron recortes de 1.2 mm, en el área central de la mancha o en área con saturación de muestra (área donde la mancha de sangre fuese notablemente visible en el reverso del papel). Los recortes se amplificaron de forma directa por lo que no se aplican métodos de extracción, ni de cuantificación de ADN.

Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha utilizado el protocolo PowerPlex® 21, bajo las especificaciones de la casa comercial PROMEGA correspondientes a un volumen completo de 25 micro litros y 25 ciclos de temperaturas, amplificando 20 loci STR correspondientes a vWA, D1S1656, D2S1338, D3S1358, D5S818, D6S1043, D7S820, D8S1179, D12S391, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, CSF1PO, FGA, Penta D, Penta E, TH01, y TPOX. Esta amplificación se realizó en el equipo termociclador Gene amp 9700 (Imagen N° 2).

Imagen N °2: Procedimiento de toma de muestra y amplificación directa de PCR mediante protocolo PowerPlex® 21 en el equipo termociclador Gene amp 9700.



Fuente: elaboración propia.

La separación y detección de los fragmentos de ADN amplificados (amplicones) se realizó mediante electroforesis capilar en el analizador genético ABI 3500 y la revisión de los perfiles genéticos se lleva a cabo con el programa GeneMapper IDX-v1.2.

Imagen N° 3: Procedimiento deElectroforesis Capilar y Analisis de perfiles Geneticos en el equipo ABI 3500 y el programa GeneMapper IDX v.1.2



Fuente: elaboración propia.

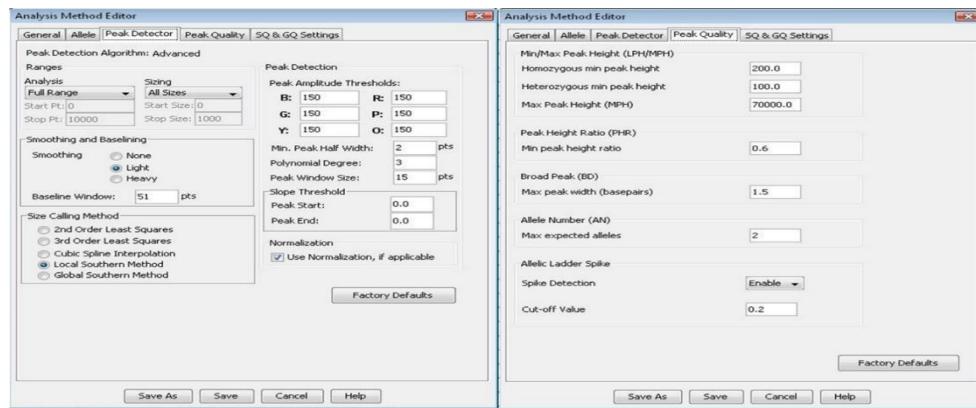
Para la separación de los fragmentos de ADN en el analizador genético ABI 3500, se ha utilizado el protocolo PowerPlex® 21, bajo las especificaciones de la casa comercial PROMEGA correspondientes a el uso de polímero POP4 en capilar de 36 cm con voltaje de inyección de 1.2kV y tiempo de inyección de 24 segundo para un tiempo de corrida total de 1500 segundo. La matriz o set de colores correspondiente fue la G5 ("Promega G5 spectral).

Cada muestra se preparó utilizando 1 microlitro de muestra con una mezcla de 10 microlitros de formamida HiDi y 2 microlitros de escalera interna de tamaño CC5 ILS 500.

Las muestras recibieron un choque térmico de 95C por 3 minutos e inmediatamente temperatura de 4C por tres minutos.

Los parámetros de análisis de los perfiles genéticos en el programa GMIDX corresponden a los establecidos en el laboratorio de análisis biomolecular del IMELCF. (Ver imagen N° 4).

Imagen N° 4: Parámetros de análisis de los perfiles genéticos en el programa GMIDX.



Fuente: programa GMID-X v1.2

Análisis de Resultados

Una vez obtenidos y validados los 267 perfiles genéticos, se utiliza el programa PowerStat para calcular la frecuencia alélica y los parámetros forenses cada uno de los 20 loci STR autosómicos. Se calcularon los parámetros de probabilidad de coincidencia, poder de discriminación y probabilidad de exclusión, así como otros parámetros forenses y de paternidad presentados en la Tabla N° 1A, Tabla N° 1B y la Tabla N° 1C).

Tabla N° 1 A. Parámetros de interés forense para marcadores de identificación humana

Locus:	D8S1179	D12S391	D13S317	D16S539	D18S51	D19S433	D21S11
Parámetros Forenses							
Probabilidad de coincidencia	0.06590077	0.04474744	0.05651643	0.07623897	0.02805482	0.06072466	0.04055324
Expresado como 1 en ...	15.1743295	22.3476489	17.6939687	13.1166513	35.6445	16.4677755	24.6589415
Poder de discriminación	0.93409923	0.95525256	0.94348357	0.92376103	0.97194518	0.93927534	0.95944676
PIC	0.78142655	0.82295908	0.79559902	0.7596321	0.87188945	0.79883202	0.8334871
Parámetros de Paternidad							
Probabilidad de exclusión	0.60880784	0.61582832	0.54069078	0.52755199	0.77024677	0.65867125	0.6952335
Índice de paternidad	2.56730769	2.61764706	2.15322581	2.0859375	4.45	2.96666667	3.3375
Frecuencias alélicas							
Homocigotos	0.19475655	0.19101124	0.23220974	0.23970037	0.11235955	0.16853933	0.14981273
Heterocigotos	0.80524345	0.80898876	0.76779026	0.76029963	0.88764045	0.83146067	0.85018727
Alelos totales	534	534	534	534	534	534	534

Fuente: elaboración propia.

De forma general se puede considerar que exista una correlación entre los parámetros; por ejemplo, se observa que, en la mayoría de los marcadores, un elevado poder de discriminación es proporcional al Contenido de Información Polimórfica (PIC) e inverso al poder de exclusión. Por ejemplo, D8S1179 tiene un poder de discriminación de aproximado de 93%, PIC 78% con probabilidad de exclusión de 60.88% y heterocigotos en 80 %. Sin embargo, se observan marcadores como D5S818 con PIC de 72% pero un poder de discriminación de 90.48% y la heterocigotidad en 74%.

Tabla N° 1B. Parámetros de interés forense (continuación...)

Locus:	D3S1358	CSF1PO	D1S1656	D2S1338	D5S818	D6S1043	D7S820
Parámetros Forenses							
Probabilidad de coincidencia	0.12135112	0.12160361	0.03143542	0.0301449	0.09510584	0.02823718	0.09406781
Expresado como 1 en ...	8.24055023	8.22343984	31.811245	33.1731038	10.5146018	35.414307	10.6306293
Poder de discriminación	0.87864888	0.87839639	0.96856458	0.9698551	0.90489416	0.97176282	0.90593219
PIC	0.6856164	0.6805339	0.85954531	0.85666958	0.72111555	0.86953258	0.74843977
Parámetros de Paternidad							
Probabilidad de exclusión	0.4584251	0.48293231	0.77785766	0.65144867	0.4954593	0.66592489	0.55399665
Índice de paternidad	1.78	1.88028169	4.60344828	2.90217391	1.93478261	3.03409091	2.225
Frecuencias alélicas							
Homocigotos	0.28089888	0.2659176	0.10861423	0.17228464	0.25842697	0.16479401	0.2247191
Heterocigotos	0.71910112	0.7340824	0.89138577	0.82771536	0.74157303	0.83520599	0.7752809
Alelos totales	534	534	534	534	534	534	534

Fuente: elaboración propia.

En relación con la frecuencia de alelos homocigotos y heterocigotos se observa que es el marcador D1S1656 el más heterocigoto con 89.14% (y por ende es el menos homocigoto con 10.86%).

Tabla N° 1C: Parámetros de interés forense (continuación...)

Locus:	FGA	PENTA D	PENTA E	TH01	TPOX	vWA
Parámetros Forenses						
Probabilidad de coincidencia	0.02963992	0.05915359	0.0161736	0.12460548	0.12780373	0.10336798
Expresado como 1 en ...	33.7382868	16.9051458	61.8291414	8.02532928	7.82449786	9.6741756
Poder de discriminación	0.97036008	0.94084641	0.9838264	0.87539452	0.87219627	0.89663202
PIC	0.86397789	0.80905105	0.90978981	0.6792389	0.66493122	0.70364916
Parámetros de Paternidad						
Probabilidad de exclusión	0.71005218	0.65144867	0.77024677	0.35753746	0.46448279	0.44644959
Índice de paternidad	3.51315789	2.90217391	4.45	1.43548387	1.80405405	1.73376623
Frecuencias alélicas						
Homocigotos	0.1423221	0.17228464	0.11235955	0.34831461	0.27715356	0.28838951
Heterocigotos	0.8576779	0.82771536	0.88764045	0.65168539	0.72284644	0.71161049
Alelos totales	534	534	534	534	534	534

Fuente: elaboración propia.

Este sistema de 20 STR autosómico de PowerPlex 21 presenta poder de discriminación mayores a 87% siendo el marcador más discriminador el Penta E con un valor de 98.38%.

Adicional a estos parámetros, el programa Powerstats v1.2 también nos permite obtener los datos de frecuencia alélica y frecuencia alélica mínima los cuales se describen en la tabla N° 2A, la tabla N° 2B y tabla N° 2C.

Tabla N° 2A: Frecuencia Alélica para marcadores de identificación Humana de Panamá.

Alelo/Marcador	CSF1PO	D1S1656	D2S1338	D3S1358	D5S818	D6S1043	D7S820
2,2							
3							
3,2							
5					0.00187		
6							
7	0.018727				0.05056		0.00936
8	0.013109				0.01124		0.11423
9	0.031835	0.00187			0.11234		0.08614
9,3							
10	0.222846	0.00375			0.03558	0.00749	0.27154
11	0.247191	0.02622		0.001873	0.3558	0.11049	0.28652
11,2							
12	0.398876	0.07491		0.001873	0.27528	0.14981	0.20225
12,2							
13	0.061798	0.05805		0.007491	0.15354	0.14232	0.02809
13,1							0.00187
13,2							
14	0.003745	0.12547		0.108614	0.00374	0.20037	
14,2							
14,3		0.00187					
15	0.001873	0.20225		0.434457		0.03745	
15,2							
15,3		0.01124					
16		0.19288	0.0224719	0.224719		0.01124	
16,2		0.10112					
16,3		0.00749					
17			0.1460674	0.136704		0.05243	
17,3		0.03558					
18			0.0355805	0.082397		0.103	
18,2							
18,3		0.00187					
19			0.1086142	0.001873		0.06367	
19,1							
19,3						0.00187	
20			0.1554307			0.04869	
20,3						0.00562	
21			0.0318352			0.00749	
21,3						0.05056	
22			0.164794				
22,2							
22,3						0.00562	
23			0.17603				
24			0.088015			0.00187	
24,2							
24,3							
25			0.0580524				
26			0.0131086				
Frec.Min	0.0105	0.012	0.0113	0.0104	0.015	0.0113	0.0108

Fuente: elaboración propia.

Tabla N° 2B: Frecuencia Alélica para marcadores de identificación Humana de Panamá.
(Continuación...)

Alelo/Marcador	D8S1179	D12S391	D13S317	D16S539	D18S51	D19S433
2,2						
3						
3,2						
5				0.003745		
6			0.001873			
7						
8			0.048689	0.003745		
9	0.003745		0.196629	0.194757		
9,3						
10	0.05618		0.088015	0.209738	0.00187	0.007491
11	0.093633		0.194757	0.277154	0.00749	0.018727
11,2						0.001873
12	0.129213		0.273408	0.191011	0.07303	0.065543
12,2						0.011236
13	0.265918		0.116105	0.11236	0.08614	0.294007
13,1						
13,2						0.097378
14	0.262172		0.074906	0.005818	0.15169	0.234082
14,2					0.00187	0.033708
14,3						
15	0.151685	0.0411985	0.005618	0.001873	0.14607	0.129213
15,2						0.076779
15,3						
16	0.033708	0.03932584			0.09551	0.011236
16,2						0.018727
16,3						
17	0.003745	0.11797753			0.17165	
17,3		0.00187266				
18		0.23782772			0.11236	
18,2					0.00187	
18,3		0.0093633				
19		0.24719101			0.04494	
19,1		0.00374532				
19,3		0.0093633				
20		0.1734082			0.04682	
20,3						
21		0.05992509			0.02247	
21,3						
22		0.04681648			0.01311	
22,2						
22,3						
23		0.04494382			0.00562	
24		0.0093633			0.00562	
24,2						
24,3						
25		0.00187266			0.00187	
26		0.00187266				
Frec.Min	0.0111	0.0111	0.0107	0.0107	0.012	0.0113

Fuente: elaboración propia.

Tabla N° 2C: Frecuencia Alélica para marcadores de identificación Humana de Panamá.
(Continuación...)

Alelo/Marcador	D21S11	FGA	PentaD	PentaE	TH01	TPOX	VWA
2,2			0.0375				
3					0.002		
3,2			0.0056				
5			0.0112	0.03184	0.002		
6				0.00187	0.446	0.0131	
7			0.0075	0.07491	0.219	0.0094	
8			0.0599	0.05618	0.09	0.4213	
9			0.1311	0.02809	0.131	0.0861	
9,3					0.105	0.0356	
10			0.2491	0.04682	0.006	0.2884	
11			0.2528	0.05056		0.1423	
11,2							
12			0.0974	0.16292		0.0037	0.003745
12,2							
13			0.1049	0.07116			0.003745
13,1							
13,2							
14			0.0393	0.12547			0.037453
14,2							
14,3							
15			0.0037	0.10487			0.11236
15,2							
15,3							
16				0.03933			0.38015
16,2							
16,3							
17		0.003745		0.06929			0.286517
17,3							
18		0.011236		0.02247			0.121723
18,2		0.003745					
18,3							
19		0.067416		0.04869			0.048689
19,1							
19,3							
20		0.074906		0.01685			0.003745
20,3							
21		0.093633		0.02622			0.001873
21,3							
22		0.114232		0.0206			
22,2		0.001873					
22,3							
23		0.11985					
24		0.198502		0.00187			
24,2	0.00187	0.001873					
24,3		0.001873					
25		0.162921					
26	0.00749	0.102996					
27	0.01873	0.020599					
28	0.10112	0.005618					
29	0.18914	0.009363					
30	0.26966						
30,2	0.01311	0.001873					
31	0.09363						
31,2	0.04494	0.003745					
32	0.04569						
32,2	0.12547						
33	0.00749						
33,1	0.00187						
33,2	0.04682						
34	0.00375						
34,2	0.00562						
35	0.01685						
36	0.00187						
37	0.00187						
Frec.Min	0.0115	0.0116	0.0113	0.012	0.0099	0.0104	0.0103

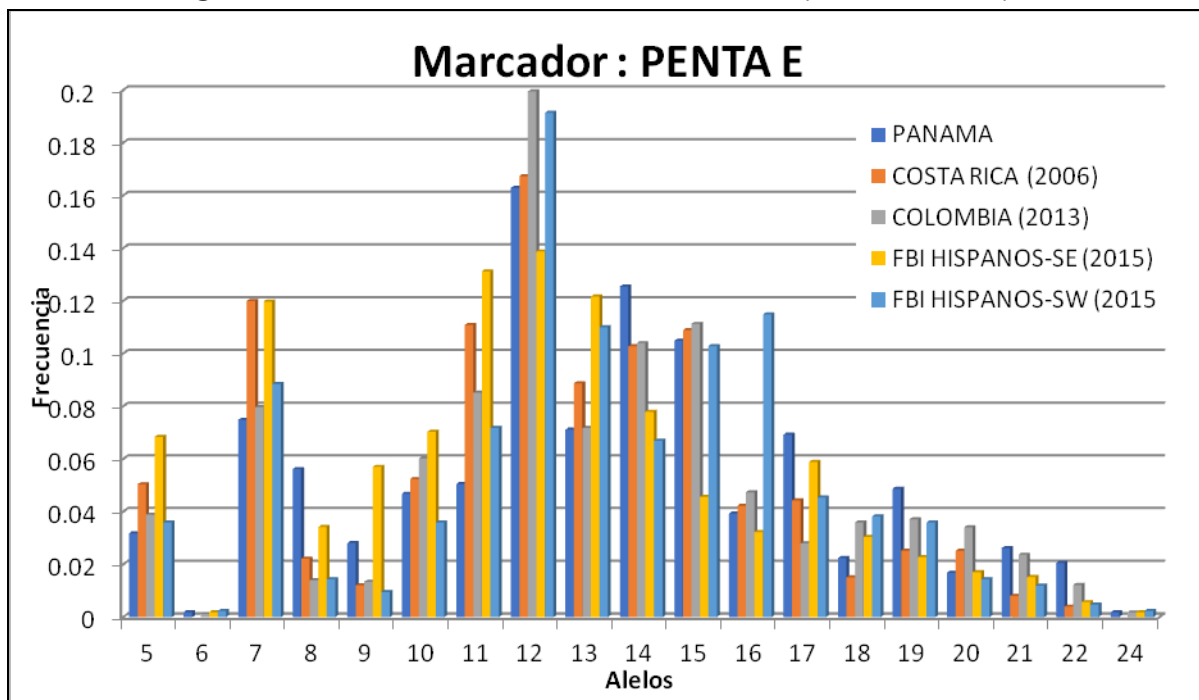
Fuente: elaboración propia

Los datos poblacionales son alimentados al programa Arlequín y se realiza la prueba de equilibrio de Hardy–Weinberg (HW) el cual es un modelo para el comportamiento de los genes y permite estimar las frecuencias genéticas las cuales permanecen constantes de

para todos los marcadores generación en generación y se utiliza como prueba sensible a la clasificación incorrecta de alelos o a alelos nulos no detectados y mutaciones. Se observaron valores de $p > 0.05$ y se aplica el estadístico de χ^2 determinándose que las frecuencias alélicas observadas no difieren significativamente aceptándose la hipótesis nula que las muestras seleccionadas se encuentran en equilibrio.

Con las frecuencias obtenidas se realiza un estudio comparativo con poblaciones similares o cercanas a la población de Panamá por lo que se utilizan las frecuencias alélicas de Costa Rica¹² (2006) y Colombia¹³ (2013) así como las frecuencias de Hispanos del estudio del FBI en Estados Unidos¹⁴ (2015). Para la frecuencia de hispanos se tiene la correspondiente a los estados de Sureste (identificados como SE) y los hispanos correspondientes a estados del Suroeste (identificados como SW).

Imagen N° 5: Distribución de alelos de Penta E para distintas poblaciones



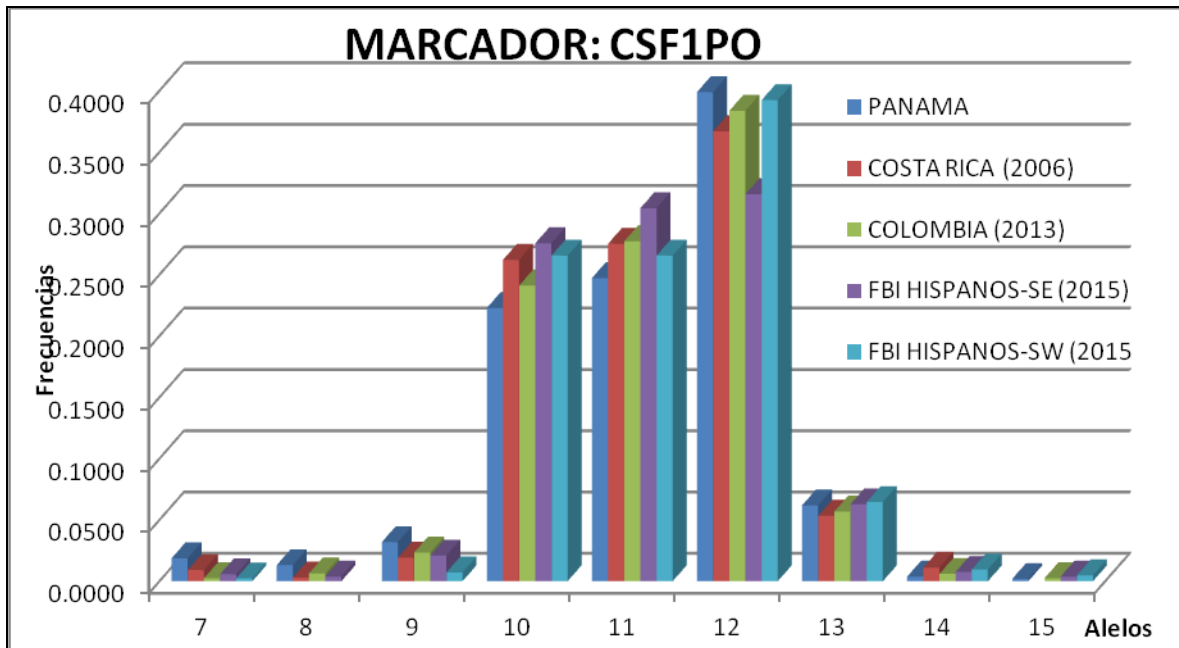
Fuente: elaboración propia

Para el Marcador Penta E, el cual es altamente polimórfico ya que mantiene al menos 19 formas distintas correspondientes a alelos desde el 5 al 24; se observa que el comportamiento de distribución de los alelos es similar entre los marcadores genéticos de identificación humana de las distintas poblaciones analizadas sin embargo los valores de las frecuencias presentan valores que difieren en algunos alelos de alguna población. Por ejemplo, para el alelo7 la frecuencia es más similar entre Costa Rica (0,12) e Hispanos del Sureste de Estados Unidos (0,119). Para este mismo alelo, Panamá (0,075) y Colombia (0,079) se mantienen similares a la frecuencia de Hispanos del Suroeste de Estados Unidos (0,088). Sin embargo, al observar el alelo 15 los valores de frecuencia son similares entre Panamá (0,1048), Costa Rica (0,1089), Colombia (0,111) y los hispanos del Suroeste de Estados Unidos (0,102) mientras que los hispanos del Sureste de Estados Unidos difieren de las poblaciones anteriores (0,045).

Al comparar entre las poblaciones, un marcador menos polimórfico, como por ejemplo el

CSF1PO, se observa que las similitudes en la distribución de los alelos se mantienen y además se observa que la diferencia entre las frecuencias de las poblaciones reportadas es menor. (Ver imagen #6). Este comportamiento variable es observable en los 20 marcadores estudiados (datos no reportados) siendo el resultado de interés la distribución de los alelos lo cual es indicativo de similitud a otros estudios válidos.

Imagen N° 6. Distribución de alelos de CSF1PO para distintas poblaciones



Fuente: elaboración propia

Conclusión

En conclusión, en función de los perfiles genéticos obtenidos de las 267 muestras se ha obtenido una base de datos población de Panamá. Utilizando los alelos observados se han determinado los parámetros forenses necesarios para 20 marcadores STR de identificación humana utilizados en el Laboratorio de Análisis Biomolecular y se puede aseverar que estos loci proveen un gran potencial para aplicaciones de identificación humana en casos de reconocimiento de restos humanos o investigaciones de personas desaparecidas, en casos forense, así como en casos típicos de análisis de relaciones biológicas (paternidades y filiaciones).

Esto se evidencia en los parámetros forenses; por ejemplo, si calculamos la probabilidad de coincidencia combinado el cual se obtiene al multiplicar la probabilidad de coincidencia de cada marcador, nos indica que este sistema proporciona probabilidades de coincidencias en el orden de 1 en $6,90823 \times 10^{24}$ (cuatrillones).

Para los datos de paternidad, con el poder de discriminación de cada marcador, se determina que Powerplex® 21 en la población de Panamá representa un poder de discriminación global superior al 0,999999, lo que indica que, para pruebas de ADN en paternidades, de forma general, se pueden esperar valores de probabilidad de Paternidad de 99.999999 %.

En relación a las distribuciones de frecuencia alélicas para la mayoría de los loci no se observa desviación de las expectativas de HWE lo cual es indicativo que la población se encuentra en equilibrio y la selección de muestras fue adecuada reflejando que se obtienen frecuencias conforme a lo esperado. Para complementar esto resultados es adecuada la continuación del presente estudio determinando la existencia de independencia en la transmisión alélica entre marcadores, el uso de la raza o grupo étnico para determinar si existen subpoblaciones o diferencias significativas entre grupos.

Los resultados de los análisis genéticos de poblaciones respaldaron el uso de estos loci y las frecuencias alélicas asociadas para estimar las estadísticas de coincidencia en las pruebas de identidad humana en el Laboratorio de Análisis Biomolecular del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Panamá.

Agradecimientos al IMELCF y a Lic. Trejos, Lic. Monteza, Lic. Edwards, Lic. Torres, Lic. Maestre y todos los colaboradores del laboratorio de Análisis Biomolecular.

Referencias Bibliográficas

- Butler, J., (2010). Cap. 2 Basics of DNA Biology and Genetics. En *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Academic Press. p.19-41.
- Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Dirección General(2009) *Informe de Gestión enero 2.005-abril 2.009*. Panamá.
- SWGDAM (2017). *Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by Forensic DNA Testing Laboratories*. Recuperado el 30 de octubre de 2020 de, https://1ecb9588-ea6f-4feb-971a-73265dbf079c.filesusr.com/ugd/4344b0_50e2749756a242528e6285a5bb478f4c.pdf
- Giardina E.,(2013) DNA Fingerprinting in *Brenner's Encyclopedia of Genetics* (Second Edition), p. 356-359, 2013. Recuperado el 30 de octubre de 2020 de:<https://www.sciencedirect.com/referencework/9780080961569/brenners-encyclopedia-of-genetics>
- Hernández-Rodríguez, A., Trejo-Medinilla, F. (2014) *Estudio Genético Poblacional de Frecuencias Alélicas para 15 marcadores STR presentes en la Población del Estado de Zacatecas Aplicado a la Práctica Forense*. Recuperado el 30 de octubre de 2020 de, <https://www.archivosdemedicina.com/medicina-de-familia/estudio-gentico-poblacional-de-frecuencias-allicas-para-15-marcadores-str-presentes-en-la-poblacion-del-estado-de-zacatecas-aplicado-a-la-prctica-forense.pdf>
- Planz, J., (2004) *Forensic Statistics 15th International Symposium on Human Identification* (October 6, 2004) Recuperado el 30 de octubre de 2020 de: <https://www.promega.com/~media/files/resources/conference%20proceedings/ishi%2015/parentage%20and%20mixture%20statistics%20workshop/generalpopulationstats.pdf?la=en>
- Botstein, D., White, R., Skolnick, M., and Davis, R., (1980). *Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms*. *Am. J. Hum. Genet.* 32,p.314-331. Recuperado el 30 de octubre de 2020 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686077/?page=7>

- Rotimi C., (2014) *Deriva genética National Human Genome Reserch Institute*. Recuperado el 30 de octubre de 2020 de <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Deriva-genetica>
- Hares, D., (2015). *Selection and implementation of expanded CODIS core loci in the United States*, *Forensic Sci. Int. Genetics* 17,p.33-34.
- PowerPlex® 21 System for Use on the the Applied Biosystems® Genetic Analyzers Technical Manual*, PROMEGA; Recuperado el 30 de octubre de 2020 de <https://www.promega.com/~media/Files/Resources/Protocols/Technical%20Manuals/101/PowerPlex%2021%20System%20Protocol.pdf>
- Rodriguez A., Arrieta G., Sanóu, I.,Vargas,M.,García, O.,Yurrebaso,I.,PérezJ., Villalta,M., Espinoza M., (2007). *Population genetic data for 18 STR loci in Costa Rica*. *Forensic Science International* 168, p. 85–88.
- Castillo, A., Gil, A., Pico, A., Vargas, C., Yurrebaso, I., Garcia o., (2013) *Genetic variation for 20 STR loci in a northeast Colombian population (Department of Santander)* *Forensic Science International Genetics Supplement Series* 4, p.298–299.
- Moretti T., Moreno, L., Smerick, B., Pignone, M., Hizon, R., Buckleton J., Bright, J., Onarato, A., (2016) *Population data on the expanded CODIS core STR loci for eleven populations of significance for forensic DNA analyses in the United States*. *Forensic Science International Genetics* volume 25, p. 175–181.
- Butler, J., (2012) *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Academic Press.
- Butler, J., (2015) *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*. Academic Press.
- National Research Council Committee on DNA Forensic Science (1996) *An Update: The Evaluation of Forensic DNA Evidence*. USA: National Academy Press [aka NRC II].
- DNA Advisory Board (2000) *Statistical and Population Genetic Issues Affecting the Evaluation of the Frequency of Occurrence of DNA Profiles Calculated from Pertinent Population Database(s)*, *Forensic Science Communications*. July 2(3).
- Chakraborty, R., (1992). *Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing*. *Human Biology* 64(2),p.141-159.
- Budowle, B., Carmody, G., Chakraborty, R., and Monson, K. (2000) *Source attribution of a forensic DNA profile*. *Forensic Science Communications*.