



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD LUIS FELIPE MONCADA

DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS CLÍNICO**

TEMA:

“Frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019”

AUTORES:

- BR. López Matus Eloísa Abigail.
- BR. Rodríguez Gutiérrez Bryan Josué.

Tutor:

MSc. Juan Carlos Loáisiga Vargas

Asesora metodológica:

MSc. Martha Xiomara Guerrero Delgado

Managua, Nicaragua marzo de 2021

Valoración del Tutor

En calidad de Tutor de Tesis presentada por:

- Br. Eloísa Abigail López Matus.
- Br. Bryan Josué Rodríguez Gutiérrez.

Para optar por el grado de Licenciado en Bioanálisis Clínico, una vez revisado el contenido de tesis con el tema: “Frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019”

Doy fe que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a presentación y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

MSc. Lcdo. Juan Carlos Loáisiga Vargas.

Valoración del asesor

En carácter de asesora metodológica del trabajo monográfico que tiene por tema “Frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019. Considero que dicho trabajo reúne los requisitos metodológicos y científicos para ser defendido y calificado ante el jurado evaluador designado.

Por los autores

- Br. Eloísa Abigail López Matus.
- Br. Bryan Josué Rodríguez Gutiérrez.

Con el fin de obtener el título de licenciatura en Bioanálisis clínico y aportar a crear un instrumento de conocimientos con base científica que podrán ser utilizados en futuras investigaciones por el Instituto de medicina legal ya que requiere conocer la frecuencia de los alelos de este cromosoma Y, el cual permite evaluar 25 marcadores genéticos para proporcionar una herramienta que ayude al sistema de justicia penal a decidir el veredicto de culpabilidad o inocencia de las personas enjuiciadas por delitos contra la libertad sexual.

Dado en la ciudad de Managua, Nicaragua 1 de marzo del 2021.

Msc. Martha Xiomara Guerrero D.

Msc. Ciencias Farmacéuticas.

Lic. Bioanálisis clínico

Asesora

DEDICATORIA

A Dios:

Por habernos brindado sabiduría para realizar este trabajo monográfico, fortaleza y salud seguir adelante y lograr culminar nuestra carrera universitaria con éxito.

A nuestros padres:

Por habernos apoyado en todo momento, por educarnos con valores y principios que nos han permitido ser personas de bien.

Y especialmente este trabajo está dedicado a todas aquellas personas que han sido víctimas de delitos sexuales.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos salud, sabiduría y paciencia para culminar esta investigación.

A nuestros padres por ser un pilar económico y moral en nuestro desarrollo académico.

A nuestro tutor el MSc. Juan Carlos Loáisiga Vargas por su disponibilidad, interés y dedicación en este trabajo.

A nuestra asesora MSc. Martha Xiomara Guerrero Delgado por su tiempo, paciencia y contribución metodológica.

Al Instituto de Medicina Legal por abrirnos las puertas para la realización de este trabajo académico-científico, en especial al Dr. Zacarías Duarte y a la MSc. Ligia Campos por permitirnos ingresar a la base de datos del Laboratorio de Genética y así llevar a cabo este estudio.

A todo el equipo de maestros de la carrera de Bioanálisis clínico que ayudaron de gran manera a nuestra formación profesional y nos motivaron a mejorar continuamente durante nuestro desarrollo académico.

RESUMEN

Se realizó un estudio de enfoque cuantitativo, descriptivo, retrospectivo de corte transversal con el objetivo de analizar la frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler Plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019, el universo lo conformaron 1300 individuos que asistieron al Instituto de Medicina Legal.

Las distribuciones de frecuencias alélicas y datos poblacionales para 25 repeticiones cortas en tándem de Cromosoma Y, fueron obtenidos de la base de datos individuos del sexo masculino que acudieron a dicho instituto.

Un total de 215 haplotipos de este cromosoma fueron identificados, encontrándose que 8 haplotipos se repetían más de una vez; al agrupar los haplotipos repetidos se caracterizaron un total de 205 haplotipos de los cuales 197 eran únicos. De acuerdo a las frecuencias alélicas de cada marcador, se logra inferir que el más frecuente fue el alelo 13 del marcador DYS393 con un 65,6%. Comparando este resultado con el de estudios poblacionales de el Salvador y México, siendo estos los más cercanos actualmente, se observa que el alelo 13 (marcador DYS393) también exhibe la mayor frecuencia para estas dos poblaciones, reflejando que existe coincidencia respecto al alelo más predominante.

Se determinó que los marcadores que poseen mayor poder de discriminación son DYF387S1 a/b (93,6%) y DYS385 a/b (93,5%), por tanto ambos poseen menor probabilidad de coincidencia con 6,4% y 6,5% respectivamente, es decir que poseen mayor utilidad forense. Asimismo se observó que los loci con mayor índice de contenido polimórfico son DYS627 y DYS385 a/b ambos con un valor de 84%

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
III. JUSTIFICACIÓN	8
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
V. OBJETIVOS	11
VI. MARCO TEÓRICO	12
6.1. Generalidades	12
6.2. Cromosoma Y	15
6.3. Aplicación de marcadores Y-STRs en genética forense	18
6.4. Identificación con ADN en Genética Forense	19
6.5. Estudios poblacionales aplicados a la Identificación Genética	20
6.6. Estudio de las Poblaciones Humanas basado en el ADN	21
6.7. Extracción de ADN a partir de tarjetas FTA	25
6.8. Amplificación de ADN	26
6.9. Determinación de haplotipo de cromosoma Y por Electroforesis Capilar	31
6.10. Yfiler Plus PCR kit de Amplificación	32
6.11. Parámetros genético-poblacionales	34
6.12. Parámetros estadísticos de interés en Genética Forense	34
VII. PREGUNTAS DIRECTRICES	37
VIII. DISEÑO METODOLÓGICO	38
IX. ANÁLISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	50
X. CONCLUSIONES	76
XI. RECOMENDACIONES	77
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
XIII. ANEXOS	79

I. INTRODUCCIÓN

La genética es la ciencia que se encarga de estudiar cómo los caracteres hereditarios son transmitidos de generación en generación. A lo largo de la historia ha existido un interés por conocer la identidad de los individuos, es decir, determinar aquellos rasgos y características que distinguen a una persona de las demás.

Por otra parte la genética forense se trata de una especialidad donde se adquieren conocimientos con el fin de poder resolver problemas jurídicos, esta misma ha evolucionado gracias a técnicas moleculares principalmente por el descubrimiento de regiones variables, la aplicación de técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa y el desarrollo de la electroforesis capilar.

El 99,5% del ADN de los individuos son idénticos entre sí y sólo el 0,5% restante es lo que nos permite diferenciarnos de los demás. Dentro de estas pequeñas proporciones de ADN distintas existen regiones polimórficas, estas regiones son las que permiten usar la información genética para fines de identificación.

El cromosoma Y es un elemento acrocéntrico y es uno de los cromosomas más pequeños del genoma humano representando el 2% del complemento cromosómico, este contiene 78 genes, entre los cuales destaca el gen SRY (región determinante del sexo del cromosoma Y) que codifica una proteína que induce el desarrollo de los testículos y a través de una amplia red hormonal provoca el carácter masculino del feto en el desarrollo.

La tipificación de STR del cromosoma Y ha sido una herramienta de gran importancia en los análisis forenses, ya que sirve como base fundamental para poder identificar a personas del sexo masculino en restos cadavéricos, casos de violación, análisis biológicos de interés criminal y variabilidades genéticas de una población determinada. Estos estudios moleculares de ADN han favorecido en gran medida a los tribunales en todo el mundo.

Los STR (repeticiones cortas en tándem) se utilizan frecuentemente en pruebas forenses, de paternidad y de ADN genealógico. Los Y-STR se toman específicamente del cromosoma Y masculino. Estos Y-STR proporcionan un análisis más escueto que los STR autosómicos

porque el cromosoma Y solo se encuentra en individuos del sexo masculino, por ende solo puede transmitirlo el padre, lo que hace que el cromosoma Y en cualquier línea paterna sea idéntico.

II. ANTECEDENTES

Se presentarán diversos estudios realizados en los últimos años en torno al tema abordado; con esto se pretende obtener mayor información y comprensión que permita contribuir al aporte acerca de la frecuencia de alelos en haplotipos del cromosoma Y.

Se realizó una investigación por el laboratorio de criminalística de la Policía Nacional de Nicaragua el cual se titulaba “Microsatélites de Cromosoma Y: Estudio de cinco marcadores genéticos en población de Nicaragua. Visión futura de su aplicación para la resolución de casos de criminalística biológica en el Laboratorio de Criminalística, Policía Nacional; Nicaragua”. El análisis de los cinco marcadores polimórficos de cromosoma Y estudiados (DYS19, GATA A7.1, GATA A10, DYS439 y GATA H4) da lugar al inicio de la creación de una Base de Datos de marcadores genéticos. El estudio en su conjunto refleja una herencia haplotípica, hasta el avance actual, de 56 haplotipos diferentes como resultados de las combinaciones alélicas de los cinco marcadores analizados. Las frecuencias haplotípicas obtenidas con el presente estudio vienen a reconfirmar la gran limitante que presenta el análisis de forma única de los marcadores polimórficos de cromosoma Y para la identificación genética poblacional, al demostrar que todos aquellos individuos de una misma línea paterna comparten igual información genética de sus haplotipos; razón que hace pensar erróneamente en que la población estudiada es meramente endogámica por su alta incidencia homocigótica.

En el año 2016 se realizó un estudio realizado en el Instituto de Medicina Legal con sede central Managua, Nicaragua titulado “Frecuencia de alelos predominantes en la población de Nicaragua mediante el análisis de ADN humano utilizando marcadores micro satélites del kit globalfiler express”, cuyo objetivo principal era determinar la frecuencia de alelos predominantes en la población de Nicaragua mediante la detección de ADN humano utilizando marcadores microsatélites del Kit GlobalFiler Express, para ser utilizadas en casos de paternidad y genética forense. El universo lo conformaron 750 personas que acudieron a realizarse pruebas de ADN, del cual se obtuvieron mediante un muestreo probabilístico, una muestra de 500 perfiles genéticos que corresponden a padres y madres, provenientes de 15 departamentos y dos Regiones Autónomas de la Costa Caribe (norte y sur). Se estudiaron 21 marcadores microsatélites que poseen un elevado grado de polimorfismo y heterocigocidad.

Los resultados encontrados en el estudio determinan que los alelos más frecuentes en la población nicaragüense fueron los siguientes:

CSF1PO: 10, 11, 12	D16S539: 10, 11, 12	D18S51: 14, 15, 17
D19S433: 13, 14, 15	D3S1358: 15, 16, 17	SE33: 18
D2S1338: 19, 20, 23	D7S820: 10, 11, 12	D1S1656: 15, 16, 17.3
D12S391: 18, 19, 20	D21S11: 29, 30	D22S1045: 15, 16
D2S441: 10, 11, 14	D8S1179: 13, 14	TPOX: 8, 11
D10S1248: 13, 14, 15	FGA: 23, 24, 25	vWA: 16,17,18
D13S317: 9, 11, 12	D5S818: 11, 12	TH01: 6, 7

Los resultados analizados determinan que la probabilidad de coincidencia y poder de discriminación combinado para los 21 marcadores es de 0.000000001 y 0.999999999 respectivamente, también se determina que el porcentaje de heterocigotos promedio en la población es de 78% y 22% para homocigotos. Los resultados contribuyen a establecer una base de datos representativos de Nicaragua, misma que es útil en las pruebas forenses y de parentesco basadas en los perfiles de ADN (Sevilla , Olivas, & Montiel, 2017).

Un estudio llevado a cabo en España en la Universidad de Zaragoza, en el año 2011 que tiene como título “Análisis de ADN mitocondrial y de polimorfismos genéticos de los cromosomas autosómicos y sexuales en la población de Nicaragua” donde se analizaron 165 muestras de la población mestiza Nicaragüense donde los sistemas genéticos de 15 STRs cromosómicos, 17 STRs de cromosoma Y y 10 STRs de cromosoma X el cual resultaron altamente polimórficos, generando un poder de discriminación y una probabilidad de exclusión elevada. Estos parámetros indican que estos sistemas constituyen marcadores genético moleculares de gran rendimiento en la identificación forense de la población mestiza de Nicaragua. En cuanto a los haplogrupos de ADNmt y cromosoma Y de la población mestiza de Nicaragua confirmó un patrón asimétrico de mezcla entre mujeres nativas y hombres europeos (españoles) principalmente. Así mismo, en este trabajo se observó que el componente nativo americano de ADNmt de la actual población mestiza de Nicaragua alcanza un 88,9%, siendo el haplogrupo A2 el más frecuente con el 77,62%, seguido de los haplogrupos B con el 14,11% y D1 representado por el 1,22%. Los datos aquí recopilados aportan información valiosa ya que son los primeros datos poblacionales de interés forense generados a la población mestiza de Nicaragua siendo de gran utilidad forense para la identificación humana, por otra parte, la información genética obtenida es beneficiosa para apoyar nuevas investigaciones (Núñez Domingo , 2011).

En el Salvador durante el año 2014 se realizó un estudio que se titula datos de población de 12 loci STR del cromosoma Y en una muestra de El Salvador, donde se estudió las frecuencias alélicas y datos de población de 12 loci STR del cromosoma Y DYS19, DYS385, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS437, DYS438 y DYS439 se determinaron a partir de una muestra de 150 individuos varones no emparentados de El Salvador, Centroamérica. Un total de 131 haplotipos fueron identificados por los 12 loci Y-STR de los cuales 118 fueron únicos. La diversidad de haplotipos (99,08%) y la proporción de diferentes haplotipos (87,33%) fueron estimadas. Las distancias genéticas RST se calcularon entre El Salvador y otras poblaciones de América del Sur y Central, Europa y África. Se encontraron las distancias genéticas RST más altas al comparar El Salvador con poblaciones africanas ($0.334 \leq RST \leq 0.395$). El no significativo más bajo La distancia se encontró en la comparación con Honduras. Las distancias genéticas observadas entre El Salvador y los grupos nativos del sur y del centro presentaron una amplia gama de valores (de 0.024 a 0.210) que se puede explicar por las diferencias en la proporción de europeos versus Contribuciones de los amerindios en estos grupos de población. El análisis, basado en valores de

RST por pares, mostró que El Salvador está más cerca del clúster europeo (compuesto por muestras de población general europea y sudamericana de Brasil, Argentina, Colombia y Venezuela) que al grupo de nativos y mestizos de América Central y del Sur poblaciones (Monterrosa, 2014).

En un estudio realizado en Guatemala durante el año 2011 titulado “Estructura genética de la población de Guatemala, se caracterizaron 397 individuos obteniendo haplotipos para los 17 STRs en cromosoma Y. Todos los haplotipos encontrados en conjunto son únicos, lo que implica una diversidad haplotípica de 1 tanto en el conjunto, como para cada uno de los 6 grupos (españoles, mestizos, kapchiquel, Kiche, mam y Qeqchi. El éxito de discriminación del kit Y filer es la inclusión de gran cantidad de marcadores y muchos de ellos con una tasa de mutación relativamente alta, como son el DYS439, DYS456 y el DYS458. En los análisis realizados de cromosoma Y de la población mestiza se puede ver un ligero aumento del porcentaje parental de la población española, con respecto a los análisis realizados en STRs (Martínez González , 2011).

Durante el año 2018 se realizó una investigación, impulsada por el instituto de ciencias forenses de Guatemala (INACIF) que tenía como objetivo la aplicación del programa M-FISys en los casos de violaciones sexuales en serie, este programa agrupa los perfiles genéticos donde ocurre transferencias de ADN, por ejemplo en casos de violación. El procedimiento consistió en importar los perfiles genéticos de los casos de transferencias a partir del año 2011 a la base de datos Criminalística dentro del programa M-FISys. Posteriormente se realizó una revisión de coincidencias en la cual se identificaron dos diferentes conglomerados que poseían un perfil genético masculino en común. La base de datos de Criminalística dentro del programa M-FISys es una herramienta importante en la identificación de grupos de violación en serie debido a que simplifica la determinación e identificación de perfiles genéticos coincidentes. Se determinaron dos violadores sexuales en serie identificados como individuo C e individuo 1 a través de la utilización del programa M-FISys. Se identificó la operación de dos grupos de violadores en serie (grupo 1 y 2) en los departamentos de Chimaltenango y Quiché en donde había reportado la presencia de este tipo de grupos, y con bajos porcentajes de delitos sexuales. El grupo 1 se conformó por la coincidencia de un perfil genético masculino -individuo C- identificado en 13 indicios tomados a 7 víctimas. El grupo 2 se conformó por la coincidencia de un perfil genético masculino -individuo 1- identificado en 11 indicios tomados a 5 víctimas (Say Rodríguez & Monzón Pineda , 2018).

En el estado de Zacatecas, México en el año 2014 se realizó una investigación titulada Estudio genético poblacional de frecuencias alélicas para 15 marcadores STR presentes en la población del estado de zacatecas aplicado a la práctica forense donde el objetivo principal era crear una base de datos de la población Zacatecana, obtener el perfil genético y con ello obtener las frecuencias alélicas y genotípicas para ser utilizadas en casos forenses, donde se obtuvieron las frecuencias alélicas de la población Zacatecana encontrando alelos que no se habían reportado en estudios con poblaciones similares, empleando estos datos en casos forenses de manera exitosa y con resultados más exactos. Se colectaron 271 muestras de los diferentes municipios del estado de Zacatecas en tarjetas FTA (64.21%) e hisopados bucales (37.79%), de la muestras el 62.73% de ellas fueron obtenidas de personas del sexo masculino y el 37.27% restante del sexo femenino. (Hernández Rodríguez & Trejo Mendilla , 2014).

Un estudio realizado durante el año 2012 titulado Genética poblacional del cromosoma Y, en el estado de Zacatecas, México. Donde se analizaron 130 muestras obteniendo 127 haplotipos diferentes. Donde el valor perteneciente a la diversidad génica fue mayor en el marcador DYS385 a/b con un 0.9172 (91.722%), y en cuanto a frecuencia alélica el alelo más frecuente fue el 13 del marcador DYS393 con un 0.7384 (73.84%). La diversidad haplotípica fue de 99.94%. El poder de discriminación fue 97.69%. El estudio comparativo con algunos países españoles nos muestra que no hay grandes diferencias entre las frecuencias de nuestra población con las de poblaciones españolas (Vallín Reza & Trejo Mendinilla, 2012).

III. JUSTIFICACIÓN

Dentro del ámbito de los hechos delictivos, Nicaragua es uno de los países centroamericanos con el mayor índice de denuncias por delitos contra la libertad sexual y en especial por violaciones, las cuales originan gran impacto, puesto que el daño que se produce no solo afecta directamente a la víctima, sino también a su familia y a la comunidad.

El Instituto de Medicina Legal (IML) de Nicaragua con sede central en Managua y todas las delegaciones forenses del país, son los encargados de levantar las evidencias presentes en la víctima mediante hisopos vaginales, orales y/o anales, así como prendas de vestir de la víctima y sospechoso, de igual forma se encargan de realizar la toma de muestra indubitada tanto a víctimas como sospechosos.

Sin embargo, existe un porcentaje de los delitos en los que debido al tiempo transcurrido o dinámica del evento no es posible determinar el perfil genético de los sospechosos en los hisopados recolectados de las víctimas con respecto al sospechoso, por lo cual es necesario realizar búsqueda de Cromosoma Y (cromosoma únicamente del sexo masculino) para poder relacionar o descartar al sospechoso como aportador de los residuos presentes en las muestras dubitadas.

Este trabajo ostenta gran importancia, ya que actualmente en Nicaragua no se ha realizado un estudio acerca de alelos en Haplotipos de cromosoma Y, y su frecuencia, por tal motivo se seleccionó el tema “Frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler Plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019”.

De este modo esta investigación ayudará a crear un instrumento de conocimientos con base científica que podrán ser utilizados en futuras investigaciones por el IML, ya que dicha institución no posee, pero requiere un estudio que indique la frecuencia de los alelos de este cromosoma en la población Nicaragüense para dar criterios de inclusión o exclusión, por ello en el presente trabajo se realizará una recopilación de la frecuencia de estos alelos determinados por medio del kit Yfiler Plus, el cual permite evaluar 25 marcadores genéticos para proporcionar una herramienta que haga posible cumplir con este parámetro estadístico y que ayude al sistema de justicia penal a decidir el veredicto de culpabilidad o inocencia de las personas enjuiciadas por delitos contra la libertad sexual. Asimismo, los resultados que se obtendrán al finalizar este estudio servirán como pilar

científico, aportando información necesaria para el impulso de nuevos proyectos investigativos por parte de estudiantes de la carrera de Bioanálisis Clínico y profesionales de la salud.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las violaciones sexuales en Nicaragua son hechos delictivos que no ocurren de manera aislada en dicho país. Según el libro blanco de la Policía Nacional en el año 2015 se reportaron un total de 1,458 denuncias por violaciones sexuales, en 2016 se reportaron 1,300 denuncias por el mismo delito y 980 en el año 2017, habiéndose identificado al agresor en 1,338; 1,207 y 911 casos respectivamente, sin embargo, no se encontraron datos específicos que correspondan al año 2018 ni 2019.

La identificación con ADN o huella genética se basa en el estudio de una serie de fragmentos de ADN presentes en todos los individuos pero que poseen la característica de ser altamente variables o polimórficos entre los mismos. El análisis de un determinado número de estas secuencias o fragmentos de ADN permite identificar a un individuo con una probabilidad muy cercana al 100%.

El análisis de las frecuencias de alelos en haplotipos del cromosoma Y, ha sido una herramienta de mucha ayuda en las investigaciones de origen criminal, especialmente los Y-STRs, que han logrado situarse en la medicina forense como los marcadores de elección, particularmente en casos de delitos sexuales o en pruebas de paternidad, esto debido a que, por su alta tasa de mutación, son altamente polimórficos y por lo tanto, mucho más efectivos para la identificación individual.

Para el desarrollo de esta investigación se ha planteado la siguiente pregunta:

¿Cuál es la frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler Plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019?

Sistematización del problema

1. ¿Cómo identificar el haplotipo de cromosoma Y de individuos del sexo masculino que asistieron al Instituto de Medicina Legal?
2. ¿Qué beneficios tiene determinar los alelos de los 27 loci Y-STR que están presentes en la población en estudio?
3. ¿Por qué es necesario calcular la frecuencia de los alelos más predominantes en dicha población?
4. ¿Para qué se aplicarán parámetros estadísticos de interés en Genética Forense en esta investigación?

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar la frecuencia de alelos en haplotipos del cromosoma Y, utilizando el kit Y filer plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019.

Objetivos específicos

- 1) Identificar el haplotipo de cromosoma Y de individuos del sexo masculino que asistieron al Instituto de Medicina Legal.
- 2) Determinar los alelos de los 27 loci Y-STR que están presentes en la población en estudio.
- 3) Calcular la frecuencia de los alelos predominantes en dicha población
- 4) Aplicar parámetros estadísticos de interés en genética forense.

VI. MARCO TEÓRICO

6.1. Generalidades

6.1.1. ADN

El ADN (ácido desoxirribonucleico) es el código que contiene la información necesaria para la construcción y el funcionamiento de un organismo, es el manual de instrucciones de los seres vivos. Está formado por dos cadenas de nucleótidos complementarias que forman una doble hélice.

Los nucleótidos son las moléculas que componen el ADN, están formados por un grupo fosfato, un azúcar (desoxirribosa) y una base nitrogenada. En el ADN hay cuatro tipos de nucleótidos que se diferencian por la base nitrogenada que tienen: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Estas moléculas se ponen una detrás de otra y forman una cadena muy larga, de manera tal que la adenina y la timina se pueden unir mediante dos enlaces, y la guanina y la citosina por tres enlaces (Anónimo, 2015).

Asimismo (Austin, s.f.) afirma que el ADN se organiza estructuralmente en cromosomas, y a nivel funcional se organiza en genes, que son piezas de ADN que generan características físicas específicas. Estas características no vienen directamente del propio ADN, sino de una molécula llamada ARN, formada a partir del ADN, y codifica una proteína. Esto es lo que se llama el dogma central de la biología molecular: en el ADN hay genes que generan ARNs mensajeros, y estos generan proteínas. Y esto es lo que da las diferentes características físicas que se observan en individuos, como el color de ojos, o la altura.

6.1.2. Cromosoma

Los cromosomas son estructuras celulares con forma de bastón que están formados por ADN, ARN y proteínas, se encargan de transmitir el material genético de una célula a otra y se encuentran ubicados en el núcleo de las células. Su esqueleto tiene dos partes, llamadas cromátidas, que están unidas por un centrómero, este último es fundamental para asegurar la correcta distribución de los cromosomas duplicados en las células hijas durante las divisiones celulares. En sus extremos están los llamados telómeros, que se encargan de impedir que las terminaciones se enreden y adhieran unos con otros; además, ayudan a que los cromosomas semejantes se emparejen y entrecrucen durante la meiosis.

En los humanos, cada célula contiene 46 cromosomas dispuestos en 23 pares. Las únicas excepciones son las células sexuales (espermatozoide y óvulo) que contienen 23 cromosomas, las que al fecundarse crean una célula con una dotación completa de cromosomas, es decir, 46 en total (Austin, s.f.).

De los 23 pares de cromosomas, los primeros 22 se denominan autosomas o autosómicos, y al par 23 cromosomas sexuales; se les conoce como gonosomas o heterocromosomas (X y Y) estos difieren del resto, ya que no siempre son idénticos, la mujer posee dos cromosomas X idénticos y el hombre, un cromosoma X y un cromosoma Y, que es más pequeño (Anónimo, Cromosoma, s.f.).

6.1.3. Polimorfismos del ADN y su clasificación

Un polimorfismo es una variante genética en la secuencia del ADN que existe de forma estable entre individuos de la misma especie y se encuentra con una frecuencia de al menos 1% son, por lo tanto, diferentes de las mutaciones, que son mucho menos frecuentes. Un polimorfismo puede no tener ningún efecto por localizarse en una región no codificante del ADN, pero si el polimorfismo se encuentra en una región codificante o reguladora, es probable que tenga consecuencias en el fenotipo (Tobella, 2019).

Dentro de la clasificación de polimorfismos, se encuentran:

Polimorfismos de secuencia: SNP (Polimorfismos de nucleótido único, “Single Nucleotide Polymorphisms”) son la forma más sencilla de polimorfismo genético ya que consisten en el cambio de un sólo nucleótido en el contexto de una secuencia genética. Se distribuyen de manera heterogénea por todo el genoma y se encuentran tanto en las regiones codificantes (exones) como no codificantes (intrones y región promotora) de los genes, así como en las zonas del genoma en donde no asientan genes conocidos; a veces llamado “ADN basura”. Los SNP determinan la mayor parte de la variabilidad genética de los individuos, causando muchas de las diferencias fenotípicas de los mismos, de igual manera, las distintas alternativas de este tipo de polimorfismo pueden determinar susceptibilidad a desarrollar una enfermedad, una mayor agresividad clínica de la misma o diferencias en la forma de responder al tratamiento (USC, s.f.).

Polimorfismos de longitud o de secuencia repetida (ADN repetitivo en Tandem) formados por bloques de ADN que se repiten consecutivamente y se dividen en ADN minisatélite y ADN microsátélite. Según (Checa, 2007):

- Minisatélites son loci que corresponden a secuencias de ADN de unas pocas decenas de nucleótidos repetidas en tandem. El número de dichas repeticiones varía de cromosoma a cromosoma, de forma que en un cromosoma el número de repeticiones en tándem puede ser de 10, en otro de 15, en otro de 22, etc, ya que son altamente polimórficos. La singularidad más especial de este tipo de polimorfismos está en que cada loci puede presentar muchos alelos distintos (tantos como repeticiones), sin embargo, presentan el inconveniente de que no están distribuidos por todo el genoma y sólo pueden ser utilizados en el diagnóstico de un número muy reducido de enfermedades.
- Microsatélites o STR (Short Tandem Repeats) son por excelencia los polimorfismos anónimos utilizados en el diagnóstico genético. Corresponden a la repetición en tándem de secuencias de entre 2 y 5 nucleótidos. Los microsatélites presentan dos características que los hacen ideales para su uso. En primer lugar, están distribuidos de forma casi homogénea por todo el genoma y en segundo, presentan un número elevado de alelos con frecuencias similares entre sí, de forma que la probabilidad de que un individuo sea heterocigoto es muy elevada. (pp. 215-216)

6.1.4. Haplotipo

La palabra “haplotipo” se deriva de la palabra “haploide”, que describe a las células con un solo juego de cromosomas, y de la palabra “genotipo”, que se refiere a la composición genética de un organismo. Un haplotipo se refiere a un solo par de genes heredados de un solo padre de un solo cromosoma, o puede describir todos los genes que se heredaron de un solo padre. Además, el término “haplotipo” también puede referirse a la herencia de un grupo de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), que son variaciones en las posiciones individuales en la secuencia de ADN entre los individuos (Rojas, 2017).

Según (Wilson, s.f.) Un haplotipo es un conjunto de variaciones del ADN, o polimorfismos, que tienden a ser heredados juntos. Haplotipo se puede referir a una combinación de alelos o a un conjunto de polimorfismos de nucleótido sencillo (SNPs) que se encuentran en el mismo cromosoma. El motivo por el cual se heredan juntos es porque no suele haber cruzamientos o recombinaciones entre estos marcadores, o diferentes polimorfismos, al estar tan cerca. Así que un haplotipo se puede referir a una combinación de alelos en un solo gen, o alelos en múltiples genes.

6.2. Cromosoma Y

El cromosoma Y es un elemento acrocéntrico y es uno de los cromosomas más pequeños del genoma humano representando el 2% del complemento cromosómico. Tiene un tamaño aproximado de unas 60 Mb. El 60% de este ADN está constituido por secuencias polimórficas, altamente repetidas y está confinado principalmente a la porción heterocromática del brazo largo, desde Yq13 a Yqter y a la región pericentromérica sugiriendo que estas regiones tendrían una funcionalidad limitada. Sin embargo, recientes investigaciones demuestran la existencia de genes y familias génicas localizadas en las regiones supuestamente no codificantes presentes en este cromosoma (Anónimo, Cromosoma, s.f.).

Desde el punto de vista citológico se han podido diferenciar regiones que han sido identificadas como regiones de eucromatina y heterocromatina.

La región eucromatina se localiza en el brazo corto (Yp), centrómero y en la zona proximal del brazo largo (Yq). Se encuentran secuencias altamente repetitivas (DYZ3, DYZ4 y DYZ5) y genes responsables de importantes funciones biológicas que muestran alguna homología con el cromosoma X o con los autosomas por lo que se considera que es la región que tiene mayor interés genético (Anónimo, El ADN, 2015).

La región heterocromatina se localiza en el brazo largo (Yq) en posición distal, esta región se dice que es genéticamente inerte y polimórfica entre diferentes poblaciones masculinas. Está compuesta principalmente de dos familias de secuencias altamente repetitivas DYZ1 y DYZ2.

El cromosoma Y contiene 78 genes, entre los cuales destaca el gen SRY (región determinante del sexo del cromosoma Y) que codifica una proteína que induce el desarrollo de los testículos y a través de una amplia red hormonal provoca el carácter masculino del feto en el desarrollo.

Debido a la falta de un elemento homólogo (lo que determina una haploidia parcial), la mayor parte del cromosoma Y no se recombina durante la meiosis. Solo se produce recombinación con el cromosoma X en dos pequeñas regiones pseudoautosómicas, las cuales son:

- La región PAR1 se localiza en la región terminal del brazo corto del cromosoma Y (Yp), tiene un tamaño aproximado de 2,6 Mb, la recombinación en esta región es necesaria para que exista una segregación normal de los cromosomas X e Y en la meiosis. Se pueden

observar alteraciones si no hay recombinación como es el caso del síndrome de Klinefelter cuyo cariotipo 47 XXY es producto de la no disyunción, no hay recombinación a nivel de la región PAR1.

→ La región PAR2 se localiza en la punta del brazo largo del cromosoma Y (Yq), tiene un tamaño aproximado de 320 Kb. Esta región no participa en procesos de recombinación.

Las regiones PAR1 Y PAR2 representan el 5% del cromosoma total, la mayoría del cromosoma Y (95%) es representada por la región no recombinante (NRY) que incluye las regiones eucromatina y heterocromatina del cromosoma (Anónimo, El ADN, 2015).

6.2.1. Región específica o no recombinante del cromosoma Y

De acuerdo con (Díaz, 2010) la región no recombinante (NRY) representa el 95% del cromosoma Y, esta incluye las regiones eucromática y heterocromática del cromosoma Y, no recombina con ninguno de los cromosomas por lo cual sus loci se transmiten en ausencia de mutaciones por línea paterna, además presenta algunos genes que son importantes en el desarrollo sexual del hombre.

La región NRY está constituida por gran variedad de secuencias heterocromáticas, las cuales han sido llamadas X degenerada, X transpuesta y amplicónica. Las secuencias X degenerada son reliquias de una época antigua cuando los cromosomas X e Y evolucionaron por primera vez a partir de un cromosoma común o autosomal. Los genes de estas secuencias que se asemejan a genes en el cromosoma X muestran evidencia del decaimiento constante debido a mutaciones y muchas de estas secuencias no son funcionales. Las secuencias X transpuestas son genes que fueron intercambiados conjuntamente a partir del cromosoma X y hay muy pocos genes funcionales en esta región. Las secuencias amplicónicas son las que existen dentro de segmentos palíndromos múltiples y repetidos. La expresión de los genes de las secuencias amplicónicas está muy restringida a los testículos expresándose en las células espermatozógenas. Estos genes probablemente tengan una función extremadamente importante en la generación del esperma. (pp. 35-36)

6.2.2. Herencia paterna

En la especie humana el genoma masculino está contenido en 23 pares de cromosomas, de los cuales, 22 pares corresponden a cromosomas autosómicos y el par 23 corresponde a un cromosoma X y un cromosoma Y. La presencia del Cromosoma Y determina el sexo masculino y establece

una herencia exclusiva de dicho cromosoma de padres a hijos varones. A diferencia de la mayor parte del material genético en el ser humano (23 cromosomas maternos y 23 paternos), los cromosomas Y no se "mezclan" durante la formación de los gametos en la meiosis. Por esta razón, cada hombre recibe un cromosoma Y idéntico al de su padre. Mientras que los demás cromosomas tienen múltiples antepasados debido a este proceso de mezcla llamado recombinación, todos los CY modernos han sido heredados directamente. Sin embargo, cuando se transmite el CY de generación en generación, se van acumulando cambios o mutaciones en el ADN a través del tiempo, a los que se les llama marcadores moleculares en pruebas de identidad, y que a su vez constituyen un registro claro de nuestro pasado.

Antes que se divida la célula, el ADN debe duplicarse, en este proceso suele haber errores llamados mutaciones, por lo que para la misma secuencia ahora existen dos formas alternas conocidas como alelos; es decir, se genera un alelo mutado y un alelo normal. Cuando el alelo mutado se hace relativamente frecuente en la población (>1%), se dice que existe un polimorfismo genético en esa secuencia de ADN. Cuando un polimorfismo se usa para diferenciar a dos cromosomas y/o individuos, se le llama marcador molecular; es decir, el alelo mutado sirve como marca que permite diferenciar a un cromosoma por tener uno u otro alelo. Por esta razón, los términos polimorfismo y marcador molecular suelen emplearse indistintamente, ya que por definición los marcadores deben ser polimórficos. A nivel molecular, las dos principales fuentes de marcadores para el estudio del cromosoma Y se pueden clasificar de la siguiente manera: Bialélicos y Multialélicos (Austin, s.f.).

6.2.3. Polimorfismos del Cromosoma Y

El cromosoma Y contiene un gran número de polimorfismos incluyendo marcadores multialélicos (mini y microsatélites) y marcadores bialélicos (inserciones, deleciones y SNPs).

→ Marcadores bialélicos del cromosoma Y (indels y Y-SNPs)

Estos marcadores se originan mediante mutaciones puntuales en un locus determinado, de manera que se crean dos alelos, el normal y el mutado. Esta mutación puede ser la sustitución de un nucleótido por otro (SNP) o la adición o pérdida de un segmento de ADN (inserciones/deleciones o indels). Sin embargo la mayoría de los marcadores bialélicos del cromosoma Y son SNPs, estos

son considerados eventos únicos y son evolutivamente estables con tasas de mutación alrededor de 2×10^{-8} por base por generación.

La ventaja de los Y-SNPs para la rutina forense reside en que permiten el análisis de pequeños fragmentos de ADN obtenidos de muestras altamente degradadas, de igual manera permiten predecir el origen geográfico o étnico de una muestra forense desconocida.

→ Microsatélites del cromosoma Y (Y-STRs)

Los marcadores multialélicos (microsatélites) específicamente son repeticiones cortas en tándem, ampliamente conocidas como STRs, cabe señalar que cada varón tiene un sólo alelo para cada STR y para cada marcador bialélico. Evolutivamente su mutación es mayor que los bialélicos y se clasifica como moderadamente rápida (Villalobos, 2003).

Los Y-STRs han logrado configurarse como los marcadores de elección, particularmente en casos de delitos sexuales o en pruebas de paternidad, esto debido a que, por su alta tasa de mutación, son altamente polimórficos y por lo tanto, mucho más efectivos para la identificación individual de lo que son los SNPs.

Estos microsatélites poseen una herencia mendeliana simple, lo que significa que un individuo hereda uno de los alelos de cada progenitor. En el caso de los STRs del cromosoma Y, estos son heredados de padre a hijo (varón) mas no a la hija. Los marcadores utilizados en análisis patrilineal en regiones de no recombinación son transmitidos en bloque a los descendientes varones (Vallín & Trejo, 2012).

6.3. Aplicación de marcadores Y-STRs en genética forense

Los microsatélites constituyen una de las clases más utilizadas de marcadores de cromosoma Y. Su mayor ventaja está en el análisis que se realiza mediante técnicas de PCR, lo que lo hace una herramienta útil en el campo de la genética forense.

Una de las grandes aplicaciones de este marcador consiste en detectar específicamente los restos celulares de un varón en casos en los que se realiza una identificación genética de una mezcla de fluidos biológicos de varón y de mujer en los que la fracción de células procedentes del varón sea minoritaria con respecto a la fracción de células de la mujer; situación que ocurre en una proporción de casos de violación en los que en la toma de fluidos biológicos por las circunstancias

de los hechos o de la toma de muestras, se detecta una pequeña cantidad de espermatozoides del agresor que se encuentran mezclados con una gran cantidad de células de descamación del epitelio vaginal de la víctima.

Otra aplicación de interés es la detección de células epiteliales masculinas procedentes de individuos vasectomizados o permitir una mejor aproximación al número de contribuyentes de semen cuando se trata de un caso de violación con agresores múltiples, obteniendo en este caso una mezcla de haplotipos de los agresores.

Los STR del cromosoma Y también pueden servir como herramienta en la identificación de otras mezclas como sangre-sangre, sangre-saliva o mezcla de tejidos similares, en las que no se puede aplicar la lisis celular diferencial (Díaz, 2010).

Asimismo, (Núñez, 2011) afirma que la utilidad de este tipo de marcador es sustancial en la investigación biológica de las paternidades deficientes, especialmente cuando el supuesto padre no está disponible, así como en la identificación de personas desaparecidas mediante la identificación de líneas paternas. El hecho de que el supuesto padre presente un haplotipo de cromosoma Y distinto al del hijo demostraría la no paternidad, con una probabilidad de exclusión mayor que la que se obtiene con los STRs autosómicos.

Por otro lado, los marcadores del cromosoma Y pueden ser de ayuda para obtener una primera aproximación al origen geográfico del individuo varón, lo que dirigiría una investigación a un grupo más acotado de sospechosos de una región geográfica específica, ya que determinados alelos o haplotipos de Y-STRs están restringidos a ciertas áreas geográficas o muestran elevada diferenciación de frecuencias entre las mismas. (pp. 51-52)

6.4. Identificación con ADN en Genética Forense

La identificación con ADN o huella genética se basa en el estudio de una serie de fragmentos de ADN presentes en todos los individuos pero que poseen la característica de ser altamente variables o polimórficos entre los mismos. El análisis de un determinado número de estas secuencias o fragmentos de ADN permite identificar a un individuo con una probabilidad muy cercana al 100%.

Además de ser muy polimórfico, el ADN que se utiliza para la identificación en Genética Forense es un ADN no codificante o no expresivo, por lo que no revela características fenotípicas de los individuos (Entrala, s.f.).

De igual manera (Martínez, 2011) describe que, el estudio de caracteres hereditarios permite hacer diagnósticos de identificación, dichos caracteres deben cumplir ciertos requisitos, como: ser altamente variables para poder diferenciarlos entre sí, poseer un modelo de herencia conocida y deben ser inmutables a lo largo de la vida del individuo e idénticos en los distintos tejidos de su organismo. (p.37)

La identificación humana en el campo de Medicina Legal es un proceso, en el cual se comparan los resultados obtenidos en el análisis de los vestigios y los obtenidos a partir de las muestras indubitadas. Las posibilidades de que exista otra persona que comparta los resultados de los análisis van disminuyendo cuando se aumentan los estudios sobre las muestras que se comparan (Blanco, 2008).

6.5. Estudios poblacionales aplicados a la Identificación Genética

El estudio poblacional determina las frecuencias alélicas y genotípicas para cada uno de los marcadores que se analicen, facilitando así la comparación de los resultados obtenidos de una población con los obtenidos para otras poblaciones, y de esta manera observar las diferencias y similitudes con poblaciones más cercanas o lejanas con respecto a la filogenética (Blanco, 2008).

Un requisito esencial para seleccionar un STR de uso forense con fines identificativos y obtener resultados altamente fiables es el estudio y caracterización de dicho polimorfismo en la población que posteriormente se utilizará como referencia. Por tal razón, los STRs deben cumplir con una serie de condiciones: alta heterocigosidad, la cual es un parámetro estadístico relacionado con el polimorfismo de este marcador, es decir, un valor alto de heterocigosidad es indicativo de un alto grado de polimorfismo. Igualmente, una baja tasa de mutación, puesto que marcadores con una tasa de mutación alta podrían presentar variaciones de una generación a otra, a tal punto de generar una falsa exclusión en un estudio biológico, como es el caso de estudios de paternidad (Díaz, 2010).

Para obtener resultados concluyentes, los parámetros utilizados deben ser óptimos y se debe contar con un sistema que tenga un gran poder de discriminación (PD) y poder de exclusión (PE).

6.6. Estudio de las Poblaciones Humanas basado en el ADN

La herencia y ausencia de recombinación del ADNmt le permiten preservar la información de los sucesos mutacionales que han surgido en un linaje mitocondrial determinado en las generaciones pasadas. Sin embargo el ADNmt, no es la única molécula que tiene un gran potencial filogenético. El cromosoma Y, portador de los genes determinantes del sexo masculino, también se hereda uniparentalmente y no padece fenómenos de recombinación en prácticamente toda su extensión. Esta falta de recombinación hace que el cromosoma se comporte como un gran fragmento único de ADN, portador de un haplotipo que se transmite intacto de padres a hijos, a no ser que actúen fenómenos de mutación (Bermeo, 2015).

El ADNmt presenta una tasa de sustitución de bases diez veces superior a la del ADN nuclear, lo que significa que existe un gran número de secuencias diferentes de ADNmt en la población, por tanto, una gran diversidad. Al mismo tiempo, esta fuerte tasa de mutación también es causa de inconvenientes: se pueden producir mutaciones puntuales varias veces en el mismo punto o aparecer independientemente en diferentes linajes, haciendo imposible determinar el estado ancestral. Por el contrario, algunas mutaciones puntuales en el cromosoma Y se pueden considerar como acontecimientos únicos que son específicos de un linaje, ya que cuando un grupo de cromosomas Y portan una mutación puntual dada es muy probable que tengan el mismo origen (Uvigen, s.f.).

6.6.1. Polimorfismos

Los polimorfismos genéticos (PG) son características genéticas que poseen todos los individuos de una población, que de igual modo se puede comparar con el resto de las poblaciones y entre los individuos. Las secuencias del ADN que tienen interés para ese uso son aquellas que están presentes en las poblaciones en forma de variantes individuales debidas a dos o más formas alternativas (alelos): la existencia de estas diferencias se denomina polimorfismo (Tobella, 2019).

Los PG del ADN se pueden subdividir respecto a su situación en el genoma, función y a su grado de variabilidad. Respecto a su posición, los PG se pueden dividir en: mitocondrial y nuclear, que a su vez se divide en autosómico y heterocromosómico o par sexual (de cromosoma X y del cromosoma Y). Si se refiere a la sede funcional pueden ser: PG de regiones intergénicas o alejadas de los genes estructurales entre los cuales están interpuestos; como es el caso de muchos STRs. De

acuerdo a la variabilidad, se puede destacar PG de elevada variabilidad intrapoblacional (con un grado de heterocigosidad H elevado) y otros de alta variabilidad interpoblacional.

Los PG de alta variabilidad intrapoblacional se pueden diferenciar en:

- ✓ Secuencias de alta variabilidad haplotípica, entre las cuales están el cluster (conjunto de genes que confiere una característica) de los genes estructurales de los antígenos del HLA.
- ✓ Sitios polimórficos puntuales constituidos por una secuencia repetida en tándem "n" veces. (Ej. STRs).

Los polimorfismos genéticos más utilizados para hacer haplotipos y haplogrupos son los que poseen una recombinación limitada, ADNmt y Cromosoma Y (Y-SNPs y Y-STRs).

6.6.2. Medidas de Diversidad

La distancia genética define el grado en que dos poblaciones difieren en sus frecuencias alélicas. Dos poblaciones que comparten un mismo origen pero han sufrido distinto desarrollo histórico, se irán diferenciando. Cuanto más tiempo sufran esta divergencia, mayor será la diferencia entre sus frecuencias génicas. Asimismo, dos poblaciones aisladas genéticamente se van diferenciando por procesos de mutación y deriva, cambiando así sus frecuencias alélicas; a mayor tiempo de separación, mayor diferencia entre las frecuencias alélicas.

6.6.3. Haplogrupos

Un haplogrupo es una agrupación de haplotipos que comparten ciertas sustituciones diagnósticas (definidas por enzimas de restricción o por su secuencia) y que presentan un origen común. Los polimorfismos que definen cada haplogrupo se produjeron exclusivamente en las líneas antecesoras de todos los haplotipos que lo integran. Los haplogrupos más comúnmente estudiados son los del cromosoma Y y del ADNmt. Ambos pueden ser usados para definir poblaciones genéticas (Rojas, 2017).

Según (Díaz, 2010), hay dos tipos de variaciones (no conectadas a enfermedades) dentro de la composición del cromosoma Y. La primera es una variación que cambia de una manera muy rápida que parcialmente permite distinguir a hombres diferentes dentro de una población y que funciona como una especie de marca personal. El otro tipo de variación cambia lentamente así que podrían haber grandes números de hombres con un tipo similar de cromosoma Y. Estas secuencias nos

permiten agrupar a los tipos de cromosomas Y en diferentes familias denominadas Haplogrupos (HG).

Se han propuesto dos tipos de nomenclatura:

- ✓ La nomenclatura jerárquica: las letras mayúsculas (A-T) se usan para identificar el clado principal y, en los subsecuentes subclados, estas letras mayúsculas constituirían el primer símbolo de la nomenclatura seguidos de un sistema alfanumérico alternativo, hasta llegar a las ramas terminales del árbol.
- ✓ La nomenclatura por mutación primero se pondría la letra mayúscula correspondiente al clado principal, seguida del nombre de la mutación terminal que define al haplogrupo dado y, entre la letra mayúscula y el nombre de la mutación siempre hay que poner un guión (-).

Así pues (Blanco, 2008) describe que, el clado de Y contiene los haplogrupos principales que se identifican con letras mayúsculas de la A hasta la T. Dentro de estos se encuentran los paragrupos que representa a los cromosomas que pertenecen a un clado pero no a sus subclados, es decir serían los cromosomas que comparten el estado derivado de un marcador que define un linaje basal y el estado ancestral de los distintos marcadores descritos hasta el momento que se encuentren situados dentro de ese linaje basal (y que definirían sub-linajes). En la nomenclatura usamos el símbolo asterisco (*) para referirnos a los paragrupos.

La distribución global de los haplogrupos del cromosoma Y, comenzando desde el clado principal “A” en orden alfabético hasta el último haplogrupo principal “T” es:

- ✓ El haplogrupo A, que en el árbol filogenético correspondería con la rama más antigua, aparece únicamente en África.
- ✓ El haplogrupo B presenta las frecuencias más altas entre grupos cazadores-recolectores de Etiopía y Sudán.
- ✓ En el haplogrupo C se ha encontrado una mayor dispersión que abarca el Centro, Sur y Este de Asia. Dentro de este haplogrupo, el linaje C1 aparece exclusivamente en Japón, el C2 en Nueva Guinea, Melanesia y Polinesia., mientras que el C3 se cree que se ha originado en el Sureste o Centro de Asia y desde aquí se ha expandido hacia el Norte de Asia, América y Europa Central. Por otro lado, el haplogrupo C4 parece estar restringido a poblaciones de

aborígenes Australianos donde este linaje es dominante. El C5 tiene una presencia significativa en la India.

- ✓ El haplogrupo D presenta las frecuencias más altas en el Tíbet (50%) y Japón (35%), pero también aparece en otras regiones de Asia Central y Sudeste asiático.
- ✓ El haplogrupo E es uno de los que presenta mayor ramificación, con una gran cantidad de subhaplogrupos descritos. Empezando por los linajes E1a y E2, que fueron descritos en el Noroeste de África y seguidos por el E1b1, que presenta una amplia distribución geográfica con dos de sus sublinajes bien definidos: E1b1 presente en toda África, y E1b1b1 presente en el Oeste de Europa y Norte de África.
- ✓ Dentro del haplogrupo F los clados menores F*, F1 y F2 aparecen en población de la India.
- ✓ El haplogrupo G aparece con más frecuencia en la región del Cáucaso, sin embargo, también presenta frecuencias significativas en áreas del Mediterráneo y Oriente Medio.
- ✓ El Haplogrupo H también aparece en la India, como sucedía con el “F”, pero no ha sido estudiado en profundidad.
- ✓ El haplogrupo I es claramente europeo. Es de los más frecuentes entre las poblaciones del Noroeste de Europa.
- ✓ La característica del haplogrupo J, es el hecho de la dispersión que experimentó este haplogrupo cuando se produjo la migración hacia el Oeste de individuos de Oriente Próximo, portando así este haplogrupo al Norte de África, Europa, Asia Central, Pakistán y la India.
- ✓ El haplogrupo K es el haplogrupo ancestral de los grupos principales que van desde “L” a “R”. Además, dentro del clado K encontramos los clados menores K*, K1, K2, K3 y K4 que están repartidos por todo el mundo en bajas frecuencias.
- ✓ El haplogrupo L, se encuentra sobre todo en la India y Pakistán, así como en Oriente Medio y, muy ocasionalmente, en poblaciones Europeas, concretamente en países Mediterráneos.
- ✓ El haplogrupo M presenta sus frecuencias más altas en Melanesia, estando su presencia limitada al área geográfica de las lenguas Papuanas.
- ✓ El haplogrupo N actualmente presenta una amplia distribución y surgió en el interior de Asia y Sur de Siberia. Los subclados más frecuentes son el N1c, que probablemente apareció en la región de China, expandiéndose desde aquí a Siberia y al Este de Europa. El otro subclado sería el N1b, presente en altas frecuencias en poblaciones Urálicas, sobretodo en el grupo poblacional Finno-Ugric.

- ✓ El haplogrupo O representa aproximadamente el 60% de los cromosomas del Este de Asia; de sus sublinajes el O3 tiene la frecuencia más alta y está ausente fuera del Este de Asia, mientras que los haplogrupos O1 y O2 aparecen en Malasia, Vietnam, Indonesia, Sur de China, Japón y Corea.
- ✓ El haplogrupo P es un linaje detectado en bajas frecuencias en el Cáucaso y la India.
- ✓ El haplogrupo Q se encuentra repartido por Asia, América, Europa y Oriente Próximo, mientras que su subclado Q1a3a está asociado de modo casi exclusivo con la población Nativa Americana.
- ✓ El haplogrupo R es un haplogrupo muy amplio, en el cual, la mayoría de los individuos de éste pertenecen al subclado R1, que está representado principalmente por dos linajes: R1a y R1b. Se cree que el haplogrupo R1b1 corresponde a los descendientes de los primeros humanos modernos que entraron en Europa. En la actualidad es el haplogrupo más frecuente en el Oeste de este continente, también aparece en el Norte de África y en bajas frecuencias en Irán y Corea. Por otro lado, los haplogrupos R1a y R1a1 se hallan en elevadas frecuencias en el Centro y Oeste de Asia, la India y en población Eslava del Este de Europa. El subclado R2 presenta su frecuencia más elevada en el Sur de Asia, encontrándose en bajas frecuencias en el Cáucaso y Asia Central.
- ✓ El haplogrupo S, anteriormente llamado K5, se encuentra principalmente en Oceanía e Indonesia.
- ✓ El haplogrupo T, anteriormente se le denominaba como K2, es observado en bajas frecuencias en Oriente Medio, África y Europa.

6.7.Extracción de ADN a partir de tarjetas FTA

Son tarjetas de un papel de celulosa a base de algodón que contienen sustancias químicas que queman las células, desnaturalizan las proteínas y protegen el ADN, lo cual deja las muestras aptas para la identificación molecular sin el riesgo de contaminación. Han sido caracterizadas como una herramienta innovadora para obtener, transportar, purificar y archivar ADN y ARN obtenido de fuentes biológicas, tales como: sangre, raspados bucales, entre otras (Entrala, s.f.).

6.8. Amplificación de ADN

Para poder detectar las zonas de estudio, se debe aumentar su número de copias, para lo que se realiza la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual fue desarrollada en 1986 por el Dr. Kary Mullis.

6.8.1. Reacción en cadena de la polimerasa

De acuerdo a (Rodríguez, Floresvillar, & Meza, 2014), esta técnica se basa en una replicación exponencial in vitro de una molécula de ADN genómico (ADNg) o ADN complementario (ADNc), mediante ciclos repetitivos, que constan de tres temperaturas. En cada uno de los ciclos las moléculas se duplican hasta que los reactivos se agotan.

La longitud del producto amplificado la delimitan los iniciadores, también llamados primers u oligonucleótidos, de cuyo diseño adecuado depende el éxito de la PCR. Los iniciadores deben ser específicos, no formar estructuras secundarias entre ellos ni hibridaciones inespecíficas entre ellos u otra parte de la cadena. (pp. 145-155)

6.8.2. Amplificación in vitro

La amplificación in vitro de la PCR se apega a las mismas reglas de la replicación; esto es, se basa en una secuencia que le sirve de molde y, por complementariedad, sintetiza la cadena antiparalela. También, la síntesis de la cadena sigue la dirección 5'-3', ya que requiere de un nucleótido con el extremo 3' libre que proporcione el grupo OH para la adición del siguiente nucleótido, con lo que se forma el enlace fosfodiéster.

6.8.3. Requerimientos necesarios para la PCR

Según (Tamay, Ibarra, & Velasquillo, 2013), los elementos importantes en la reacción son el templado o molde (ADN o ADNc), la enzima ADN polimerasa, los oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg⁺), una solución amortiguadora o buffer y H₂O.

- ✓ Templado o molde: El elemento principal en la PCR es el ADN, cuya naturaleza química ofrece ventajas para su manipulación. La complementariedad entre las bases está dada por puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, generando estabilidad a la doble hélice, la carga eléctrica del ADN es negativa y está dada por los grupos fosfatos. En la PCR, el

templado son las cadenas de ADN que se separan y funcionan como molde para que la enzima sintetice las nuevas cadenas que llevan la secuencia blanco de interés.

- ✓ ADN polimerasa: es la enzima encargada de la catálisis de la reacción, sintetizando las nuevas cadenas de ADN que llevan la secuencia blanca. La enzima más usada con frecuencia se llama Taq ADN polimerasa, que proviene de una bacteria termófila llamada *Thermus aquaticus*, la cual vive en condiciones de temperatura muy altas y por eso su ADN polimerasa es capaz de soportar ese tipo de temperaturas. El rasgo que distingue a esta enzima bacteriana de otras ADN polimerasas de otros organismos es su capacidad para mantener su funcionalidad a temperaturas altas.
- ✓ Oligonucleótidos/ primers: Los primers son secuencias de oligonucleótidos que flanquean y delimitan la secuencia blanca que se desea amplificar y son complementarios a ésta. Generalmente su tamaño oscila entre 15-25 pares de bases y la cantidad de G-C no debe ser más del 55% de la secuencia. Si no se respetan estas reglas, existe la posibilidad de la formación de dímeros de primers, es decir, de productos inespecíficos. Esto repercutiría en el rendimiento de la reacción, así como en la especificidad del producto esperado. Son dos secuencias diferentes de primers las que se utilizan en la PCR, una denominada «forward» o sentido y otra «reward» o antisentido; ambas deben estar diseñadas para que hibriden con el templado y las cadenas de ADN puedan ser extendidas por la Taq polimerasa en dirección 5'-3' (como sucede endógenamente).
- ✓ dNTP's: son los ladrillos o bases nitrogenadas con los que la Taq polimerasa construye las nuevas cadenas de ADN. Son factores importantes que contribuyen a la especificidad de la reacción, por ello es importante que su concentración sea la adecuada ya que de lo contrario pueden afectar la función de la Taq polimerasa. Normalmente, se utilizan a una concentración que oscila entre 0.2 a 1.0 mM.
- ✓ Buffer: es la solución amortiguadora que se usa en la reacción y generalmente está compuesta de Tris-HCL (pH = 8) cuya concentración final de trabajo debe ser 1x.
- ✓ El agua: es el disolvente en la reacción y se usa en su forma destilada libre de nucleasas, enzimas que degradan a los ácidos nucleicos.
- ✓ Magnesio: es un cofactor enzimático que influye en la especificidad de la reacción, por eso se debe tener una concentración adecuada para que no afecte el rendimiento de la Taq polimerasa; regularmente su concentración oscila entre 0.5 y 2.5 mM. (pp. 70-78)

6.8.4. Esquema de la PCR

El esquema convencional de una PCR, incluye los siguientes pasos:

1. Inicio de la desnaturalización.
2. Ciclos de amplificación.
 - ✓ Temperatura de desnaturalización.
 - ✓ Temperatura de alineamiento.
 - ✓ Temperatura de extensión.
3. Amplificación final.
4. Almacenamiento temporal.

Estos pasos se llevan a cabo mediante el cambio automático de temperaturas en un equipo diseñado para este fin denominado termociclador.

6.8.5. Termociclador

Los equipos en donde se realiza la reacción en cadena de la polimerasa son llamados termocicladores, los cuales están diseñados para establecer un sistema homogéneo en donde las condiciones de temperatura y tiempo necesarios no se modifiquen en cada uno de los ciclos.

De manera más explícita, es un equipo capaz de cambiar la temperatura de la muestra en cuestión de segundos, lo que por lo general se logra mediante calentamiento/ enfriamiento por resistencia eléctrica de una placa metálica, que distribuye la temperatura de manera homogénea durante tiempos programados en el rango de segundos a minutos. Normalmente los rangos de temperatura que abarca el equipo van de 4 a 96°C. Dado que las PCR que se incuban son soluciones acuosas, los equipos cuentan con una placa metálica a manera de tapa, la cual se mantiene a 103°C para evitar la condensación del agua en las tapas de los tubos donde ocurre la reacción. De esta manera, se evita que la concentración de los solutos se modifique, lo que alteraría las condiciones óptimas para la ADN polimerasa y la termodinámica de hibridación de los primers. Para el enfriamiento se generan flujos de aire frío, lo que permite descensos de temperatura relativamente rápidos.

Al final de la reacción, para corroborar si se amplificó la secuencia blanco de interés, los productos de la PCR o también llamados amplicones son analizados en geles de agarosa para confirmar si la reacción fue exitosa.

Equipo para realizar la PCR

ProFlex 96-well PCR System es un termociclador de Applied Biosystems. El sistema ProFlex combina la fiabilidad y el rendimiento de los instrumentos de Applied Biosystems con las características de configuración y control flexibles que se adaptan a las necesidades de investigación.

✓ Inicio de la desnaturalización

Es necesaria una temperatura de 95°C para la desnaturalización de la doble cadena de ADN, en el caso del ADN genómico, o el rompimiento de estructuras secundarias, en el ADNc. Esta temperatura se mantiene por cinco minutos al inicio de la PCR.

✓ Ciclos de amplificación

Un ciclo típico de PCR convencional consta de las tres temperaturas siguientes:

95°C: desnaturalización por unos 30 segundos.

55 a 60°C: alineación por 30 a 40 segundos.

72°C extensión, según la longitud del producto que se va a amplificar, considerando la adición de 1000 nucleótidos en 60 segundos.

Este ciclaje de temperatura se repite continuamente por 30 a 35 ocasiones. Cada temperatura cumple con una función específica.

✓ Desnaturalización

Se realiza a 95°C y tiene como objetivo desnaturalizar la doble cadena de ADN y/o destruir las estructuras secundarias del ADN, lo que permite el acceso de los primers a la cadena molde en sus secuencias complementarias. Esta temperatura se mantiene durante 20-30 segundos; el tiempo depende de la secuencia del templado, es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más

tiempo para romper sus uniones debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T.

✓ Alineación

En esta fase, la temperatura se encuentra en un rango entre 55 y 60°C, en el cual la mayoría de los iniciadores hibridan; esto es, se genera la energía cinética necesaria para que los iniciadores busquen en las cadenas de ADN su secuencia complementaria y formen los puentes de hidrógeno con la cadena molde, dejando el extremo 3'OH disponible y listo para la adición de los nucleótidos consecutivos por la ADN polimerasa.

Para que se forme el complejo templado-primers, es importante que la temperatura de hibridación o temperatura melting (T_m) sea la óptima. Si el diseño de los primers es el correcto y la temperatura es la adecuada, la estabilidad y especificidad del complejo será eficiente.

✓ Extensión

En esta etapa, la Taq polimerasa actúa sobre el complejo templado-primers y empieza su función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas completas de ADN. La extensión de las cadenas es en dirección de la síntesis del ADN, es decir, de 5' a 3'. La temperatura óptima para la reacción es de 72 °C, ya que a esa temperatura la enzima es funcional. Al final del ciclo, se habrán formado los amplicones con un tamaño dictado por el número total de pares de bases (pb).

✓ Amplificación final

Una vez terminados los ciclos designados para la PCR, la temperatura de extensión (72°C) se mantiene por cinco minutos, lo que permite que la polimerasa termine la extensión de los productos a los cuales se encuentra unida.

✓ Almacenamiento temporal

Durante la programación de los ciclos de la PCR se programa también un ciclo final de 4°C por varias horas, lo que permite conservar los productos de PCR hasta que se retiren los tubos de reacción del equipo.

6.8.6. PCR para Y-STR

La PCR para determinación de haplotipos de cromosoma Y, posee características de varios tipos de PCR, una de ellas PCR- in situ al no requerir extracción de ADN, ya que directamente del papel FTA se obtiene un disco de 1.2 mm para realizarse la PCR. Asimismo ostenta características de PCR-multiplex, puesto que realiza la amplificación de más de un fragmento de ADN en una sola reacción de PCR con 54 juegos de primers aunque solo está marcado enzimáticamente el primer iniciador y posee la característica de ser una PCR de punto final, ya que el producto de la PCR se analiza después de varios ciclos de reacción, mediante una electroforesis capilar.

6.9. Determinación de haplotipo de cromosoma Y por Electroforesis Capilar

La electroforesis capilar (EC) es una técnica analítica que permite la separación de una amplia gama de analito (iones, péptidos, proteínas, carbohidratos, esteroides, ácidos nucleicos, vitaminas, fármacos, células, etcétera). Parte de la versatilidad y eficacia de esta técnica se debe a que combina elementos de otras técnicas analíticas; por ejemplo, utiliza detectores de alta sensibilidad como en la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y el uso de capilares de sílice fundida como en la cromatografía de gases (Chopin, 2012).

Además (Osatinsky, 2007) considera que, esta técnica de separación se basa en la diferente velocidad de migración de las distintas especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico. La separación se lleva a cabo en un capilar de sílice fundida de diámetro muy pequeño (10-200 μm). El uso de estos capilares tiene múltiples ventajas: los capilares son anticonvectivos en sí mismos, por lo tanto, no es necesaria la utilización de un gel de soporte como medio; el calor generado al pasar la corriente eléctrica (efecto Joule), que daría lugar a problemas de gradientes de temperatura no uniformes (cambios locales de viscosidad), es fuertemente reducido, ya que la disipación de calor es muy efectiva; pueden aplicarse altos voltajes consiguiéndose una reducción del tiempo de análisis y altas eficiencias.

En electroforesis capilar la tira se reemplaza por un tubo capilar abierto en sus extremos, el capilar y los viales se llenan con una solución buffer. La muestra está formada por un conjunto de aniones y cationes que se introduce dentro del sistema ocupando una única zona. Al someterlo a la influencia de un campo eléctrico, migran hacia el electrodo correspondiente, estableciéndose un movimiento de iones que forman parte del sistema. Permite la separación de moléculas cargadas

en función de su movilidad electroforética, en un buffer a un pH determinado, según el punto isoeléctrico (pI) de la molécula y de un flujo electrosmótico (EOF). El EOF es el flujo del líquido en el interior del capilar originado por la carga eléctrica negativa existente en la pared interna del capilar. En el caso de los capilares de sílice fundida ésta superficie de carga es generado por la ionización de los grupos silanol.

Es decir, la pared del capilar adquiere carga negativa (al pasaje de la corriente eléctrica) produciéndose la polarización del agua, la que por consiguiente tiende a desplazarse hacia el polo negativo. Esta corriente líquida que se desplaza en sentido opuesto a la dirección de la corriente eléctrica es el EOF.

✓ Sistema de Detección

Este sistema de detección, es una gran ventaja de esta técnica, puesto que se realiza directamente sobre el capilar, es decir que el mismo capilar actúa como celda de detección. El tipo de detector escogido dependerá de los analitos a determinar y, siempre que se pueda, se escogerá aquel que proporcione una sensibilidad elevada para todos los compuestos. El detector ultravioleta–visible es uno de los más empleados en la CE. La longitud de onda escogida es de 214 nm, o de 200 nm de acuerdo al equipo con el que se trabaja (Castagnino, s.f.).

6.10. Yfiler Plus PCR kit de Amplificación

Este kit está diseñado para laboratorios forenses que procesan muestras de bases de datos y trabajos de casos Y-STR altamente desafiantes. El kit Yfiler Plus está optimizado para ayudar a mejorar la resolución de pruebas de rastreo y mezclas de agresión sexual que contienen pequeñas cantidades de ADN masculino en un gran fondo de ADN femenino y ofrece a los laboratorios el poder de discriminación y el rendimiento para permitir resultados precisos en menos tiempo desde Muestras desafiantes.

Características clave del kit de amplificación de PCR Yfiler Plus:

- ✓ Capacidad de discriminación mejorada a través de marcadores nuevos y altamente discriminatorios.
- ✓ Rendimiento mejorado con muestras degradadas e inhibidores de PCR.

- ✓ Precisión de genotipado mejorada a través de escalera alélica expandida y contenedores virtuales.
- ✓ Concordancia con datos existentes en bases de datos de haplotipos de referencia.
- ✓ Mayor eficiencia del flujo de trabajo que permite un tiempo de resultados más rápido que los kits Y-STR anteriores.

El kit de amplificación de PCR Yfiler Plus permite la amplificación multiplex de los 17 marcadores Y-STR incluidos en los kits de amplificación PCR YFLF de AmpFLSTR, así como 10 nuevos Y-STR que utilizan la química de 6 colores para ofrecer la capacidad discriminatoria más alta de cualquier Y-Kit STR. En particular, la inclusión de siete Y-STR de mutación rápida (RM) con tasas de mutación superiores a 1×10^{-2} ayuda a mejorar la resolución de la diferenciación del linaje paterno y ayuda a la discriminación de los machos estrechamente relacionados (ThermoFisher, 2016).

→ Descripción del producto

El kit de amplificación de PCR Yfiler Plus es un ensayo multiplex de 6 tintes para repeticiones en tándem cortas (STR) que permite la amplificación de múltiples tipos de muestras específicas masculinas, como mezclas masculinas-masculinas y masculinas-femeninas, y amplificación por PCR directa de una sola fuente de muestras. El Yfiler Plus amplifica 27 loci STR del cromosoma Y (DYS576, DYS389I, DYS635, DYS389II, DYS627, DYS460, DYS458, DYS19, YGATAH4, DYS448, DYS391, DYS456, DYS390, DYS438, DYS392, DYS518, DYS570, DYS437, DYS385 a/b, DYS449, DYS393, DYS439, DYS481, DYS387S1 a/b, DYS533).

El kit contiene todos los reactivos necesarios para la amplificación de ADN genómico humano. Los reactivos están diseñados para su uso con los siguientes instrumentos y software:

- ✓ Termociclador: GeneAmp PCR System 9700 tapa de plata de bloque de 96 pocillos.
- ✓ Un GeneticAnalyzer3500xL.
- ✓ Un Software Gene Mapper ID-X v1.4

6.11. Parámetros genético-poblacionales

→ Frecuencia génica

Es la medida de la proporción relativa de alelos de una población dada. Estas frecuencias se expresan en tantos por ciento o en tantos por uno, y se calculan mediante el recuento de cada alelo y dividiendo este número por el número total de alelos analizados.

→ Selección natural

Proceso en la naturaleza por el que un genotipo deja más descendencia que otro, debido a sus características superiores de la historia de la vida como supervivencia o fecundidad.

→ Deriva génica

Es un mecanismo de evolución y se refiere a fluctuaciones aleatorias en las frecuencias de los alelos de una generación a la otra, debido a sucesos aleatorios. La deriva genética puede causar que ciertos rasgos pasen a ser dominantes o desaparezcan de una población (Rotimi, s.f.).

6.12. Parámetros estadísticos de interés en Genética Forense

→ Cálculo de frecuencias alélicas:

$$f(A) = \frac{n^{\circ} \text{ de alelos observados}}{n^{\circ} \text{ total de alelos}}$$

→ Cálculo de frecuencias alélicas mínimas:

Determinados marcadores genéticos, altamente polimórficos, pueden poseer un elevado número de alelos, y alguno de ellos puede presentarse con una frecuencia muy baja en la población objeto de estudio. Para evitar una estimación errónea del valor real se asigna una frecuencia mínima arbitraria de 0,05 (Andrade, 2006).

$$FAM = \alpha \frac{1}{2n}$$

Donde:

α : nivel de significación (0,05)

n: tamaño muestral

→ Frecuencia de Haplotipos

$$h = \frac{n(1 - \sum p_i)}{n - 1}$$

Donde n es el número total de haplotipos y pi es la frecuencia alélica.

→ Probabilidad de match o coincidencia

Es la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar tengan idénticos haplotipo en uno o varios sistemas genéticos dados y puede simplificarse en la siguiente fórmula.

$$pm = \sum p_i^2$$

Siendo pi la frecuencia de los diferentes genotipos observados en el locus en cuestión

→ Poder de discriminación (PD)

Según (Bermeo, 2015), se define como la capacidad que tiene un marcador de diferenciar a un hombre tomado al azar, de ser genotípicamente idéntico con otra persona, muestra o evidencia forense. Es decir, es la probabilidad de que dos individuos no relacionados puedan ser diferenciados genéticamente mediante el análisis de uno o varios marcadores, igualmente, se puede analizar un vestigio, si bien se diferencia de otro tomado al azar. Es una medida relativa de la eficacia del sistema.

$$PD = 1 - \text{probabilidad de match o coincidencia}$$

→ Probabilidad de exclusión a priori (PE)

El poder de exclusión es la probabilidad de que un sistema específico muestre evidencias que conduzcan a la exclusión de un posible sospechoso, o a la exclusión de una supuesta paternidad de un individuo. Éste es un estadístico que predice como se producirá la identificación en el análisis a posteriori (Martínez, 2011).

$$PE = pq(1 - pq)$$

Dónde: p es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del gen 1 y q es la probabilidad de que un individuo sea transmisor del gen 2.

→ Razón de Verosimilitud (Likelihood ratio) LR

Es un cociente de probabilidades de un suceso (evidencia) dadas dos hipótesis mutuamente excluyentes, y que es la solución más justa:

H_a: Hipótesis de la acusación

H_d: Hipótesis de la defensa

$$LR = \frac{\Pr\left(\frac{E}{H_a}\right)}{\Pr\left(\frac{E}{H_d}\right)} = \frac{1}{p}$$

Siendo Pr (E/H_a) la probabilidad de la prueba de ADN (E) si la hipótesis de la acusación (H_a) es cierta, que es siempre igual a 1; y Pr (E/H_d) la probabilidad de la prueba de ADN (E) si la hipótesis de la defensa (H_d) es cierta, y que será igual a la frecuencia del genotipo en la población (p). Por lo tanto el LR final de todos los sistemas analizados sería 1 partido por el producto de las frecuencias genotípicas de los distintos marcadores.

Por tanto la probabilidad de inclusión se calcula mediante la fórmula:

$$W = \frac{LR}{LR + 1} \times 100$$

VII. PREGUNTAS DIRECTRICES

1. ¿Cómo identificar el haplotipo de cromosoma Y de individuos del sexo masculino que asistieron al Instituto de Medicina Legal?
2. ¿Qué beneficios tiene determinar los alelos de los 27 loci Y-STR que están presentes en la población en estudio?
3. ¿Por qué es necesario calcular la frecuencia de los alelos más predominantes en dicha población?
4. ¿Para qué se aplicarán parámetros estadísticos de interés en Genética Forense en esta investigación?

VIII. DISEÑO METODOLÓGICO

Área de estudio: El estudio se realizó en el Instituto de Medicina Legal, sede central Managua.

Tipo de investigación

De acuerdo al problema planteado y en función a los objetivos trazados, la investigación es de enfoque cuantitativo, descriptivo, retrospectivo de corte transversal.

Universo

El universo está compuesto por 1300 individuos que asistieron al Instituto de Medicina Legal, sede central Managua.

Muestra

La muestra estuvo conformada por 215 individuos del sexo masculino. Es la parte de la población que se selecciona, de la cual realmente se obtiene la información para el desarrollo del estudio y sobre la cual se efectuarán la medición y la observación de las variables objeto de estudio.

Tipo de muestreo

No probabilístico por conveniencia.

Para la selección de la muestra se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

Criterios de inclusión

- Los individuos deben ser de sexo masculino.
- Las muestras deben ser recolectadas en papel FTA.
- Que a la muestra se le haya realizado determinación de haplotipo de cromosoma Y.

Criterios de exclusión

- Muestras recolectadas de manera inadecuada.
- Muestras tomadas fuera del período ya establecido.
- Que la muestra no haya sido procesada con el kit Yfiler Plus.
- Haplotipos con más de un alelo en marcadores no correspondientes.

Operacionalización de variables

Variable	Sub variable	Indicador	Valor	Criterio
Haplotipos del cromosoma Y	Alelos	DYS576	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25	Presente Ausente
		DYS389I	9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17	Presente Ausente
		DYS635	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30	Presente Ausente
		DYS389II	24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35	Presente Ausente
		DYS627	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27	Presente Ausente
		DYS460	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14	Presente Ausente
		DYS458	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24	Presente Ausente
		DYS19	9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	Presente Ausente
		YGATAH4	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	Presente Ausente

		DYS448	14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24	Presente Ausente
		DYS391	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	Presente Ausente
		DYS456	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24	Presente Ausente
		DYS390	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29	Presente Ausente
		DYS438	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	Presente Ausente
		DYS392	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20	Presente Ausente
		DYS518	32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49	Presente Ausente
		DYS570	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26	Presente Ausente
		DYS437	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18	Presente Ausente
		DYS385 a/b	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28	Presente Ausente

		DYS449	22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40	Presente Ausente
		DYS393	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18	Presente Ausente
		DYS439	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17	Presente Ausente
		DYS481	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32	Presente Ausente
		DYS387S1 a/b	30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44	Presente Ausente
		DYS533	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17	Presente Ausente
Frecuencias alélicas de los 25 marcadores Y-STR		Alelos predominantes	Menor o igual a 99%	
		Alelos de frecuencias mínimas	Mayor o igual a 0.005%	

Frecuencias haplotípicas	Número de haplotipos repetidos	Mayor a 1	
	Número de haplotipos únicos	Igual a 1	
Parámetros estadísticos	Poder de discriminación	Menor o igual a 99.9%	
	Probabilidad de coincidencia	Menor o igual a 99.9%	
	Índice de contenido polimórfico (PIC)	Menor o igual a 99.9%	
	Poder de exclusión	Menor o igual a 99.9%	

Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

La información que se utilizó para esta investigación se obtuvo de la base de datos de individuos que acudieron al Instituto de Medicina Legal, sede central Managua, seleccionando de esta manera los resultados de los individuos que cumplen con los criterios de inclusión antes descritos.

Para el desarrollo de este estudio solamente se tuvo acceso al resultado correspondiente del haplotipo de cada individuo y no a información personal como nombres, edad o dirección domiciliar.

Procedimientos para la recolección de la información

Se realizó una carta dirigida a la coordinadora del departamento de Bioanálisis Clínico del Instituto Politécnico de la Salud de la UNAN-Managua; Luis Felipe Moncada para la aprobación del tema. Posteriormente se realizó una carta dirigida a la jefa del Laboratorio de Genética Forense, del Instituto de Medicina Legal; sede central Managua, solicitando que nos permita acceder a la base

de datos de dicho laboratorio, con el fin de recopilar los datos oportunos para el desarrollo de la investigación titulada “Frecuencias de alelos en Haplotipos de cromosoma Y utilizando el kit Yfiler Plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019”.

El laboratorio del Instituto de Medicina Legal realizó la detección de haplotipos de cada individuo utilizando el kit Yfiler-plus, amplificando 27 loci STR del cromosoma Y (DYS576, DYS389I, DYS635, DYS389II, DYS627, DYS460, DYS458, DYS19, YGATAH4, DYS448, DYS391, DYS456, DYS390, DYS438, DYS392, DYS518, DYS570, DYS437, DYS385 a/b, DYS449, DYS393, DYS439, DYS481, DYS387S1 a/b, DYS533).

El ADN se extrajo de muestras de sangre depositadas en tarjetas de FTA, estas contienen productos químicos que lisan las células, desnaturalizan las proteínas y protegen los ácidos nucleicos de las nucleasas, la oxidación y los daños causados por radiación UV. Estas tarjetas inactivan rápidamente organismos, como los patógenos de transmisión hemática, e impiden el crecimiento de bacterias y otros microorganismos.

Los datos fueron analizados por medio de GeneMapper Software ID-X, programa exclusivo para investigaciones forenses. Creado con el fin de analizar resultados obtenidos a partir de los kits de Yfiler y los kits de GlobalFiler.

Recolección, preservación y transporte de la muestra biológica

Las muestras se obtienen por punción capilar; y son recolectadas y preservadas en tarjetas FTA. Se realiza de esta manera para proteger el DNA de las muestras de los individuos, ya que, son tarjetas que contienen sustancias químicas que queman las células, desnaturalizan las proteínas y evita el riesgo de contaminación. La elección de las tarjetas FTA para la recolección de las muestras, se debió a que éstas simplifican el archivado, purificación y análisis de DNA puro.

Procesamiento de la muestra

Las muestras se obtienen a partir de tarjetas FTA de Whatman, es un papel de filtro especialmente impregnado para la toma de muestra de sangre, saliva u otros fluidos corporales. Estas a su vez provocan la lisis celular, inactivación enzimática, bacteriana y vírica, los inhibidores de la PCR se eliminan fácilmente con el FTA-purification reagent. El ADN queda atrapado y estabilizado en la matriz y permite realizar la PCR sin ninguna purificación o limpieza adicional. La muestra para la

amplificación de ADN se obtiene a partir de una perforación a la tarjeta FTA, con un Harris Micro-Punch de 1,2 mm, presionando y girando suavemente sobre el área, posteriormente se guarda la tarjeta FTA correctamente rotulada y almacenada en una bolsa estéril hasta que se lleve a cabo el PCR.

Técnica

PCR

El kit de amplificación de PCR Yfiler Plus: es un ensayo de repetición en tándem corto multiplex (STR) que posee 6 colores, optimizado para permitir la amplificación de múltiples tipos de muestras específicas, como mezclas hombre-hombre, hombre-mujer. El kit amplifica 27 Loci Y-STR. La amplificación de ADN es llevada a cabo a partir de PCR multiplex lo que permite amplificar varios segmentos de ADN simultáneamente. Los enlazadores no nucleotídicos permiten un posicionamiento reproducible de los alelos para facilitar espacio inter locus. La combinación de un sistema fluorescente de 6 tintes y el uso de los enlazadores de nucleótidos permiten la amplificación simultánea y la separación eficiente de los 27 Loci Y-STR durante el análisis automatizado de fragmentos de ADN.

COLORANTE	COLOR
6-FAM	Azul
VIC	Verde
NED	Amarillo
TAZ	Rojo
SID	Púrpura
LIZ	Naranja

Electroforesis

Se utiliza la técnica de electroforesis capilar, esta permite la separación por corriente eléctrica y se basa en la velocidad de los desplazamientos que poseen las distintas moléculas. Es fundamental que el genotipo utilice una escalera alélica en las mismas condiciones que las muestras.

Equipos

- ✓ Sistema de PCR para 96 pocillos ProFlex
- ✓ Termociclador veriti 96 pocillos
- ✓ Analizador genético serie 3500
- ✓ Software de recopilación de datos HID Updater 3500
- ✓ Contenedor de buffer de ánodo
- ✓ Contenedor de buffer de cátodo
- ✓ Polímero POP-4 para analizadores genéticos

Materiales

- ✓ Harris punch 1,2 mm
- ✓ Base de corte de Harris
- ✓ Alcohol
- ✓ Lancetas
- ✓ Alcohol
- ✓ Guantes
- ✓ Tapa bocas
- ✓ Papel toalla
- ✓ Tubos de Eppendorf 1.5 ml con tiras para cubrir el tubo
- ✓ Placas Eppendorf
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Placa de reacción óptima de 96 pocillos prepfiler

Reactivos

- ✓ Master Mix
- ✓ Primer Set
- ✓ Low-Te Buffer
- ✓ Tarjetas clásicas Whatman FTA
- ✓ Reactivo de coloración.

Procedimiento

Para la obtención de la muestra

- ✓ Limpiar el lugar de la punción y realizar la punción utilizando una lanceta.
- ✓ Colocar la gota de sangre en el papel FTA
- ✓ Dejar secar la muestra
- ✓ Rotular y guardar el papel FTA en sobres o bolsas estériles.
- ✓ Refrigerar hasta su procedimiento.

Para la preparación de la muestra

- ✓ Limpiar con alcohol el Harris punch por cada muestra y la Base de corte de Harris.
- ✓ Realizar la perforación del papel FTA.
- ✓ Preparación de las reacciones.

Preparación de PCR

1. Agregue muestras a la placa de reacción:

A estos pozos	Añadir
Control negativo	Disco en blanco de 1,2 mm
Muestra	Disco de muestra de 1,2 mm
Control positivo	2 µL de ADN de control 007 (por 27 ciclos)

2. Agite en el vórtex el master mix y el juego de imprimación durante 3 segundos. Antes de abrir los tubos o botellas, retire las gotas de las tapas centrifugando los tubos brevemente o golpeando las botellas en el banco.

3. Pipetee los volúmenes requeridos de componentes en un tamaño adecuado.

Componente de reacción	Volumen por reacción
Master mix	10 µl
Primer set	5 µl

Low TE buffer	10 µl
---------------	-------

Cálculos

Volumen de reacción x cantidad de la muestra= cantidad de la mezcla reactivo a utilizar

25 µl x 200= 5,000 µl de la mezcla reactivo

4. Agite en el vórtex la mezcla de reacción durante 3 segundos y luego centrifugue brevemente.
5. Dispense 25 µL de la mezcla de reacción en cada pocillo de reacción de un MicroAmp™ Placa de reacción óptica de 96 pocillos.
6. Selle la placa con película adhesiva transparente MicroAmp o Película adhesiva óptica MicroAmp™
7. Centrifugue la placa a 3000 rpm durante unos 20 segundos en una centrífuga de mesa con porta platos.
8. Amplifique las muestras

Amplificación

1. Las condiciones del termociclador deben ser las siguientes para cada fase de PCR

Incubación inicial	Número de ciclo óptimo		Extensión final	Retención final
	Desnaturalización	Alineación/extensión		
Sostenido	CICLO (Amplificación directa 27)		Sostenido	Sostenido
95 ° C	94 ° C	61,5 ° C	60 ° C	4 ° C
1 minuto	4 segundos	1 minuto	22 minutos	Hasta 24 horas

2. Cargue la placa en el termociclador, cierre la cubierta térmica y luego inicie el ciclo.
3. Cuando finalice la ejecución, almacene el ADN amplificado.

Electroforesis

Este procedimiento se aplica a los instrumentos de las series 3500. Prepare las muestras para electroforesis inmediatamente antes de cargarlas.

1. Pipetee los volúmenes requeridos de componentes en un tamaño adecuado tubo de polipropileno:

Reactivo	Volumen por reacción
GeneScan™ –600 LIZ™ Tamaño estándar v2.0	0,4 µl
Formamida Hi-Di	9,6 µl

2. Agite el tubo en un vórtex, luego centrifugue brevemente.
3. En cada pocillo de una placa de reacción óptica de 96 pocillos MicroAmp agregue:
 - 10 µL de la mezcla estándar de formamida / tamaño
 - 1 µL de producto de PCR o escalera alélica

Nota: Para los pocillos en blanco, agregue 10 µL de formamida.
4. Selle la placa de reacción con los septos apropiados, luego agite brevemente y centrifugue cada placa para asegurarse de que el contenido de cada pocillo se mezcle y se recoja en el fondo.
5. Calentar la placa de reacción en un termociclador a 95 ° C durante 3 minutos.
6. Coloque inmediatamente el plato en hielo durante 3 minutos.
7. Coloque la bandeja de muestras en el inyector automático y luego inicie el ciclo de electroforesis.

Interpretación

Los datos se analizaron por medio de GeneMapper Software ID-X, programa exclusivo para investigaciones forenses. Creado con el fin de analizar resultados obtenidos a partir de los kits de Yfiler y los kits de Global Filer.

El software GeneMapper ID-X, analiza datos de 4 a 6 colores y es necesario para analizar correctamente los datos que se generan con el Kit de amplificación Yfiler Plus PCR. Después de

la electroforesis, el software de recolección de datos almacena información para cada muestra en un archivo. El software GeneMapper ID-X posterior le permite analizar e interpretar los datos de los archivos.

Plan de tabulación y análisis de los resultados

Para la realización y edición de este trabajo se utilizó el programa Microsoft Word; asimismo se hizo uso del programa Microsoft Excel para la creación de gráficos estadísticos y el programa Power Stats para cálculos estadísticos que se utilizaron para el análisis y discusión de resultados, además de Microsoft Power Point para elaborar la presentación de esta investigación.

Ética de la Investigación

Se realizó un documento de consentimiento informado de manera escrita, dirigido al Instituto de Medicina Legal en el cual se explicará los objetivos del estudio, y de igual manera se comunicará que los resultados permanecerán en confidencialidad por parte de los integrantes de esta investigación académica.

IX. ANÁLISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Se analizaron 215 haplotipos con 25 marcadores Y-STR del kit Yfiler Plus, estos haplotipos pertenecen a individuos del sexo masculino que acudieron al laboratorio de Genética del Instituto de Medicina Legal, con lo cual se pudo identificar un total de 215 haplotipos de cromosoma Y, encontrándose que 6 de estos haplotipos se repetían 2 veces, y otros 2 haplotipos se repetían 3 veces, agrupando estos haplotipos repetidos se caracterizaron un total de 205 haplotipos, de los cuales 197 haplotipos eran únicos.

Tabla 1. Frecuencia y porcentaje de los haplotipos que se repiten y haplotipos únicos encontrados en la población Nicaragüense.

Haplotipos	N	Frecuencia	Porcentaje
Únicos	197	0,00465	91,63%
Repetidos 2 veces	6	0,00930	5,58%
Repetidos 3 veces	2	0,01395	2,79%

Fuente: Base de datos del laboratorio de Genética del Instituto de Medicina Legal.

Una vez caracterizados los haplotipos se calcularon las frecuencias de cada repetición, el poder de discriminación, el poder de coincidencia y el índice de contenido polimórfico de cada marcador para la población estudiada.

En la población masculina nicaragüense, se encontró un total de 48 alelos distribuidos en los 25 marcadores Y-STR, siendo el alelo 11 el que representa la mayor frecuencia en 4 de estos marcadores (DYS460, DYS533, DYS438 y DYS392) con un porcentaje de 48.8%, 43.3%, 35.8%, y 33.5% respectivamente. Los alelos 12, 13, 14, 17 y 22 exhiben la mayor frecuencia en 10 marcadores distintos, el alelo 12 con una frecuencia de 48.8% y 43.7% en los marcadores YGATAH4 y DYS439 correspondientemente; el alelo 13 en los marcadores DYS393 (65.6%) y DYS389I (57.7%); el alelo 14 en los marcadores DYS437 (55.8%) y DYS19 (41.9%); asimismo el alelo 17 posee la mayor frecuencia en los marcadores DYS458 (36.3%) y DYS570 (29.8%) y el alelo 22 en los marcadores DYS481 (26.5%) y DYS627 (19.1%). Por otra parte, el alelo 10 predomina en el marcador DYS391 (61.4%); el alelo 24 en el marcador DYS390 (48.8%); el alelo 15 en el marcador DYS456 (48.4%); el alelo 23 en el marcador DYS635 (47.9%); el alelo 18 en el marcador DYS576 (40%); el alelo 19 en el marcador DYS448 (37.2%); el alelo 30 en el marcador DYS389II (32.1%); el alelo 29 en el marcador DYS449 (29.3%); el alelo 39 en el marcador

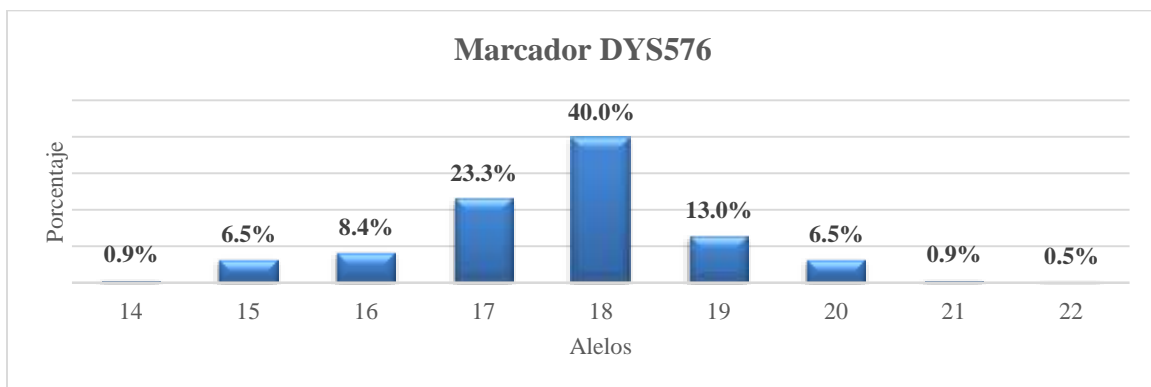
DYS518 (25.6%); el alelo 11-14 en el marcador DYS385a/b (20%); el alelo 21 en el marcador DYS627 (19.1%) y el alelo 35-36 en el marcador DYF387S1 (18.6%).

Dentro de los parámetros estadísticos el marcador DYF387S1 presentó el mayor poder de discriminación con un 93.6%, seguido del marcador DYS385a/b con un 93.5%, por tanto ambos marcadores muestran menor probabilidad de coincidencia con 0.064 y 0.065 respectivamente.

Los marcadores DYS627 y DYS385 a/b el mayor índice de contenido polimórfico (PIC), ambos con un valor de 0.84, seguido del marcador DYF387S1 a/b con un valor de 0.82 y de los marcadores DYS518, DYS449 y DYS481 con un PIC de 0.81.

Un estudio del Salvador que es el más cercano que está registrado, únicamente incluyó 12 loci Y-STR, asimismo México realizó una investigación en la cual su análisis poblacional se basó en 16 loci Y-STR, a diferencia de este estudio que incluye 27 loci Y-STR, por tal razón se hará comparación poblacional de la frecuencia de los alelos en base a los marcadores en común con los estudios del Salvador y México.

Gráfico N°1. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS576 en la población masculina nicaragüense.

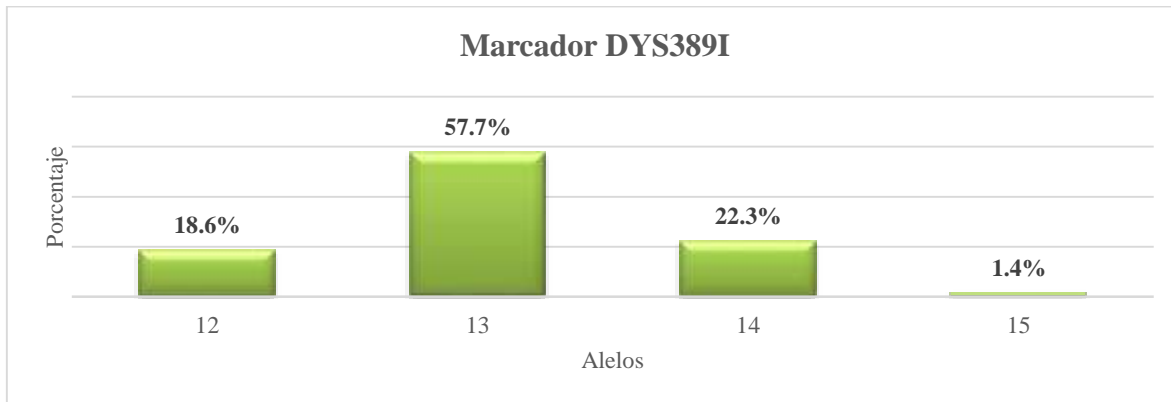


Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Dentro de los 25 marcadores Y-STR del kit Yfiler plus se encuentra el marcador DYS576 cuya escalera alélica abarca desde el alelo 10 hasta el alelo 25. Los alelos presentes en la población Nicaragüense correspondiente a este marcador son los observados en el gráfico N°1, el cual comprende desde el alelo 14 hasta el alelo 22, siendo el más predominante el alelo 18 con una frecuencia de 0,4 es decir que el 40% de la población en estudio posee dicho alelo. Por otra parte

el alelo con menor frecuencia (0,005) es el 22 y sólo el 0,5% de la población lo posee. Dada la frecuencia de los alelos encontrados para este marcador, se obtiene un poder de discriminación de 75,3% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

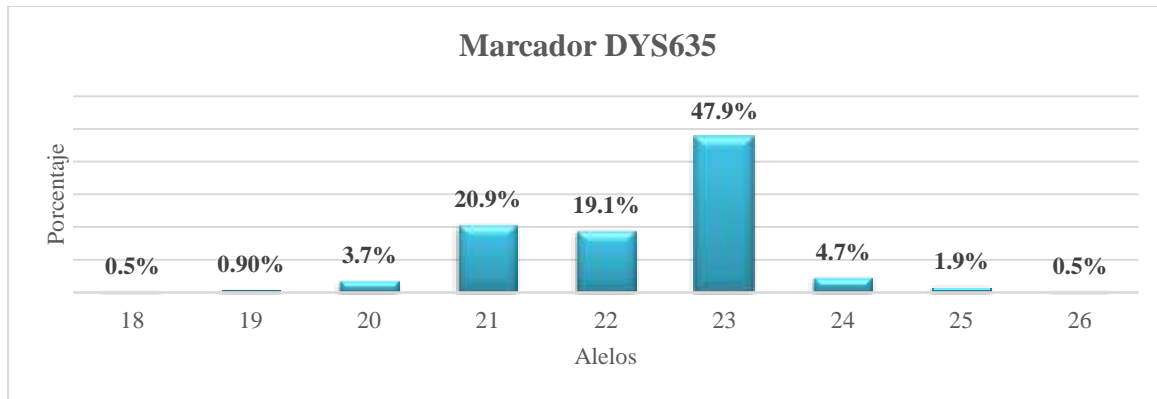
Gráfico N°2. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS389I en la población masculina nicaragüense.



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Según la escalera alélica establecida para el marcador DYS389I está conformada por 9 alelos, los cuales van desde el alelo 9 hasta el alelo 17. Los alelos encontrados en la población masculina de Nicaragua son un total de 4 (véase en el gráfico N°2), siendo el de mayor frecuencia el alelo 13 (0,577) correspondiente a un 57,7% de la población estudiada. En comparación con el estudio de El Salvador cuyos alelos encontrados para este marcador fueron desde el alelo 11 hasta el alelo 14, destacándose el alelo 13 con una frecuencia de 0,6467, al igual que en Nicaragua este es el de mayor frecuencia. El alelo de menor frecuencia observada en el Salvador fue el alelo 11 cuya frecuencia es de 0,0067 a diferencia de Nicaragua donde la menor frecuencia observada fue para el alelo 15 (0,014), lo que sugiere que el 1,4% de la población lo posee. Cabe señalar que el alelo 11 presente en El Salvador para este marcador no se encuentra en la población Nicaragüense. En la población estudiada en México, al igual que en el Salvador y Nicaragua el alelo 13 resulta más común con una frecuencia de 0,607; mientras que el alelo de frecuencia mínima es el 15 (0,007). Este marcador posee un poder de discriminación de 58,3% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, por ende es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

Gráfico N°3. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS635, en la población masculina nicaragüense.

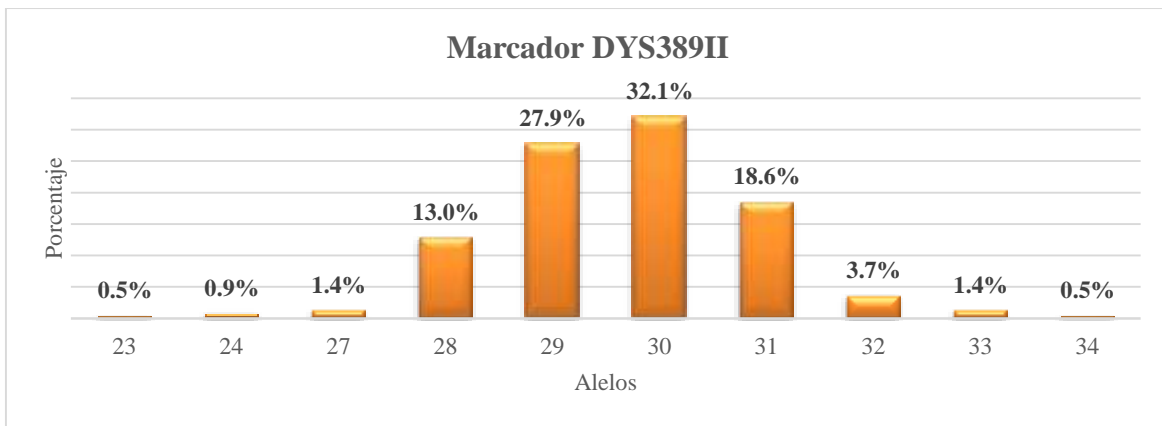


Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

En Nicaragua solamente se encuentran presentes 9 de los 16 alelos del marcador DYS635 el cual según la escalera alélica comprenden desde el alelo 15 hasta el alelo 30. De acuerdo al gráfico N°3, el alelo 23 predomina con una frecuencia de 0,479 por tanto el 47,9% de la población masculina posee este alelo. Un estudio realizado en Zacatecas, México refleja que el alelo que presenta mayor frecuencia para este marcador también es el alelo 23 con una frecuencia de 0,390. Mientras que el alelo de menor frecuencia en Nicaragua es el alelo 18 y el alelo 26 ambos con 0,005, por tanto solo el 0,5% de la población viril posee este alelo. En comparación con la población de México cuyo alelo que menor frecuencia obtuvo fue el alelo 20 (0,048).

De acuerdo con la frecuencia de sus alelos este marcador ostenta un poder de discriminación de 68,6% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina. En este marcador se encontraron los alelos 18, 19, 25 y 26, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

Gráfico N°4. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS389II, en la población masculina nicaragüense.

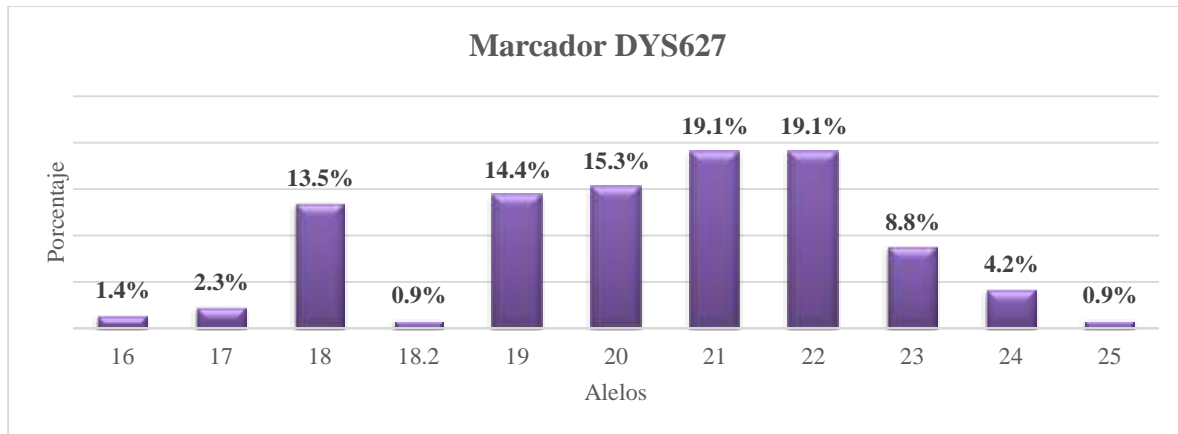


Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Conforme a la escalera alélica del marcador DYS389II, este incluye 12 alelos, de los cuales solo 10 están presentes en la población estudiada, cantidad de alelos que se reduce para el Salvador y México. De acuerdo con la gráfica N°4 el alelo más común es el alelo 30 con una frecuencia de 0,321; es decir que el 32,1% de la población viril nicaragüense lo posee. Sin embargo para el Salvador y México el alelo más común es el 29 con una frecuencia de 0,466 y 0,361 respectivamente. No obstante, los alelos menos frecuente para Nicaragua fue el 23 y el 34 con una frecuencia mínima de 0,005, lo que indica que el 0,5% de la población en estudio lo posee. Mientras que para el Salvador la frecuencia mínima se observó en el alelo 27 (0,020) y para México las frecuencias mínimas se observaron en los alelos 26 y 27 (0,007).

Este marcador posee un poder de discriminación de 76,6% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, por ende es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen. En el marcador DYS389II se encontraron los alelos 23, 24, 33 y 34, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

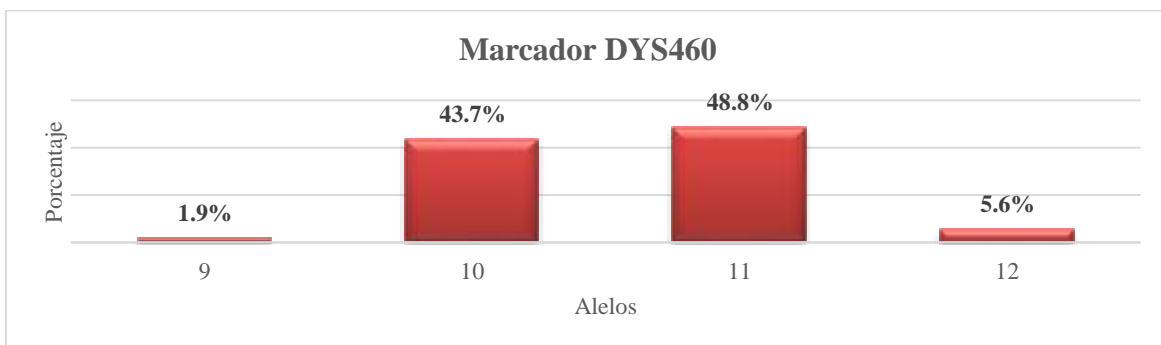
Gráfico N°5. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS627, en la población masculina nicaragüense.



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

De acuerdo con la gráfica N°5, los alelos observados en el análisis del marcador DYS627 van desde el alelo 16 hasta el alelo 25, lo que significa que en la población en estudio solamente están presentes 11 de los 17 alelos que abarca este marcador según su escalera alélica, manifestando mayor frecuencia los alelos 21 y 22 (0,191), es decir que ambos alelos se encuentran en un 19,1% de la población estudiada. Contrario a los alelos 18,2 y 25 que poseen una frecuencia mínima de 0,009; por tanto solo está presente en el 0,9% de la población. De acuerdo con la frecuencia de sus alelos este marcador ostenta un poder de discriminación de 85,4% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

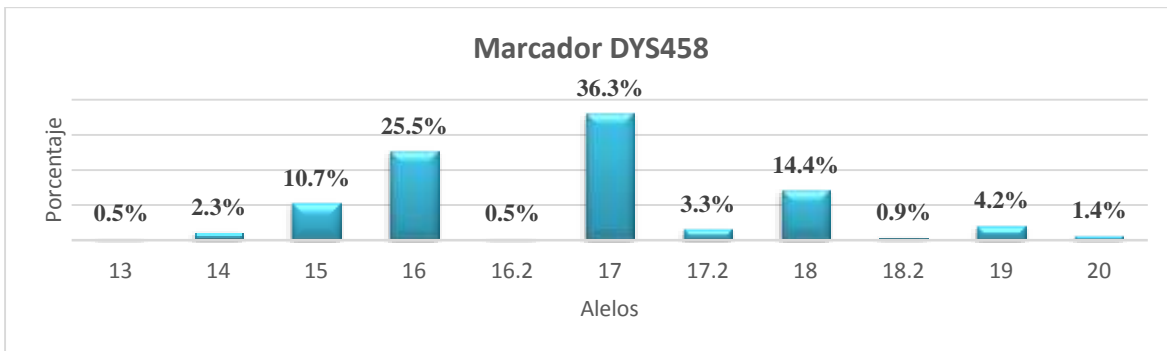
Gráfico N°6. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS460, en la población masculina nicaragüense.



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Para la población masculina Nicaragüense, en el marcador DYS460 únicamente se ha logrado observar la presencia de 4 de los 8 alelos que posee dicho marcador en su escalera alélica (ver gráfico N°6), siendo predominante el alelo 11 el que ostenta una frecuencia de 0,488; lo que indica que está presente en un 48,8% de la población estudiada. Por otra parte el alelo 9 solo está presente en el 1,9% de dicha población con una frecuencia de 0,019. Este marcador posee un poder de discriminación de 76,6% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, por ende es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

Gráfico N°7. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS458, en la población masculina nicaragüense.



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

En el marcador DYS458 se logra observar la presencia de 11 de los 14 alelos que comprende este marcador en su escalera alélica, exhibiendo el alelo 17 una frecuencia de 0,363, por tanto un 36,3% de la población viril lo posee; al igual que en la población masculina de México este alelo es el más común con una frecuencia de 0,368. Sin embargo la población Nicaragüense de este estudio muestra las frecuencias mínimas para los alelos 13 y 16,2 (0,005) es decir que un 0,5% de la población masculina lo posee; mientras que para la población del estudio de México el alelo menos frecuente fue el 19 (0,048).

Dada la frecuencia de los alelos encontrados para este marcador, se obtiene un poder de discriminación de 76,7% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina. En dicho marcador se encontraron

los alelos 13, 16.2, 17.2, 18.2 y 20, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

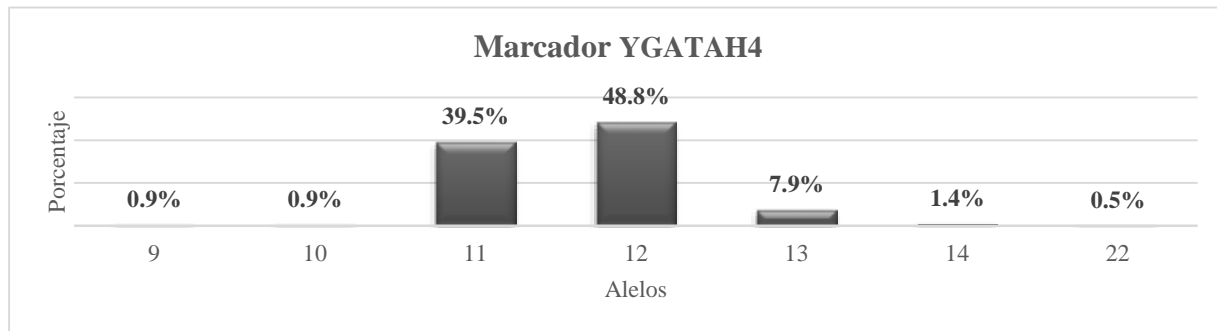
Gráfico N°8. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS19, en la población masculina nicaragüense.



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Para el marcador DYS19 se encontró que la población en estudio posee 7 de los 11 alelos que abarca este marcador, caracterizándose el alelo 14 como el alelo más común, con una frecuencia de 0,419 por ende se encuentra en un 41,9% de la población masculina. De igual manera este alelo predomina tanto en la población de El Salvador como en la población de México con una frecuencia de 0,466 y 0,453 respectivamente. Es notable la coincidencia en los datos tanto para alelos comunes como para alelos de frecuencias mínimas, puesto que el alelo 11 es el menos frecuente en la población de Nicaragua, de El Salvador y México con una frecuencia de 0,005, 0,006 y 0,007 correspondientemente. Así pues el alelo 11 se encuentra en el 0,5% de la población. El marcador DYS19 posee un poder de discriminación de 69,8% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, por ende es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

Gráfico N°9. Frecuencia de alelos identificados para el marcador YGATAH4, en la población masculina nicaragüense.

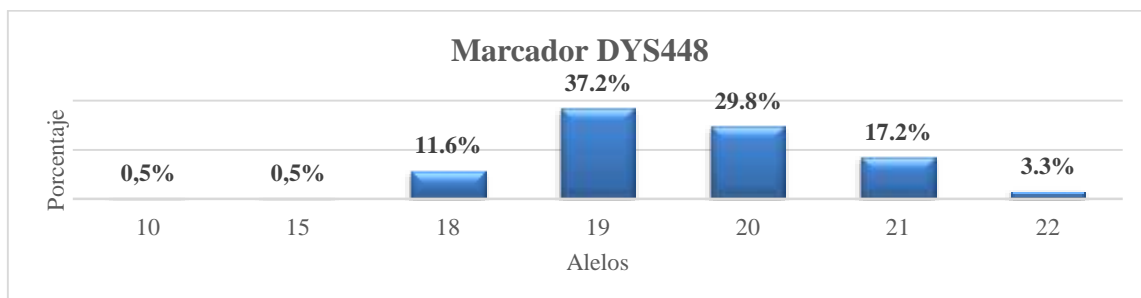


Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Los alelos encontrados en la población viril de Nicaragua fueron 7 de los 8 que incluye en su escalera alélica el marcador YGATAH4, los que van desde el alelo 8 hasta el alelos 15. Siendo el alelo 12 el más predominante con una frecuencia de 0,488; por tanto el 48,8% de la población de Nicaragua lo posee. En México solamente se encontraron 4 alelos, y el más frecuente fue el 11 (0,317). El alelo menos frecuente para la población estudiada fue el alelo 22 con una frecuencia de 0,005 es decir se encuentra en un 0,5% de la población estudiada; mientras que para México el alelo menos frecuente fue el 13 (0,015).

Dada la frecuencia de los alelos encontrados para este marcador, se obtiene un poder de discriminación de 59,9% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina. En dicho marcador se encontraron los alelos 9, 14 y 22, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

Gráfico N°10. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS448, en la población masculina nicaragüense

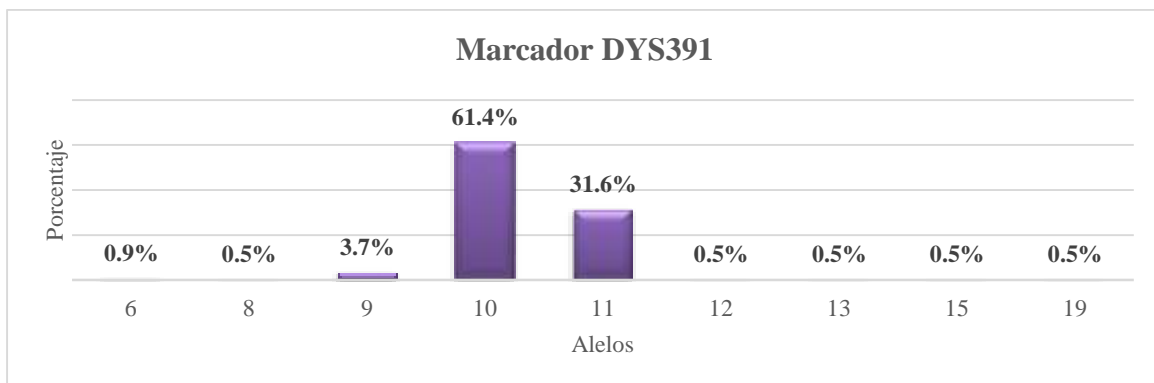


Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Conforme al gráfico N°10, en la población masculina nicaragüense están presentes 7 alelos de los 11 que incluye el marcador DYS448 en su escalera alélica. Resaltando el alelo 19 como el alelo más predominante con una frecuencia de 0,372; lo que sugiere que el 37,2% de la población estudiada lo posee. A diferencia con la población de México, la cual destaca al alelo 12 como el más frecuente (0,423). Asimismo hay diferencias de acuerdo a los alelos menos comunes para ambas poblaciones, siendo para Nicaragua el alelo 10 y el alelo 15 los menos comunes, con una frecuencia de 0,005 por tanto el 0,5% de la población lo posee y para México los alelos menos frecuentes son los alelos 8 y 13 (0,023).

El marcador DYS448 posee un poder de discriminación de 72,9% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen. En este marcador se encontraron los alelos 15, 18, 19, 20, 21 y 22, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

Gráfico N°11. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS391, en la población masculina nicaragüense



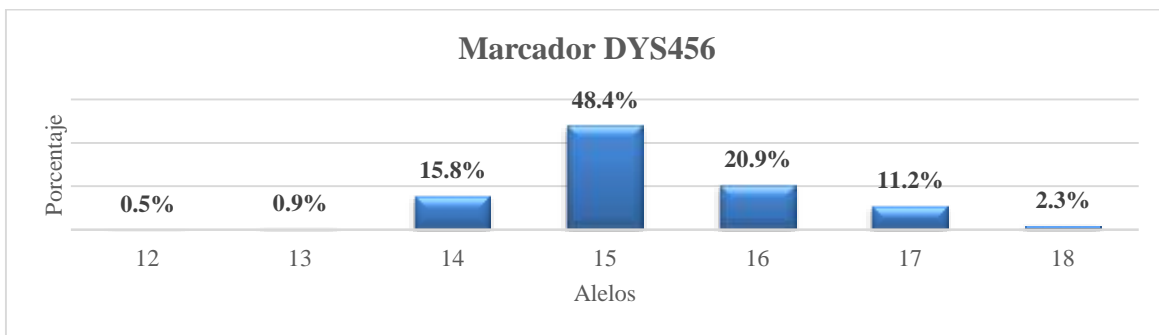
Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Según la escalera alélica el marcador DYS391 comprende 12 alelos que van desde el alelo 5 hasta el alelo 16, para la población masculina estudiada se encontraron 9 de estos alelos, número que se reduce para la población de el Salvador y México. Siendo más común el alelo 10 para las tres poblaciones, en Nicaragua este alelo obtuvo una frecuencia de 0,614; es decir que el 61,4% de la

población lo posee. En el Salvador y México la frecuencia observada para este alelo fue de 0,586 y 0,569 correspondientemente. Asimismo para estas dos poblaciones la frecuencia mínima se obtuvo para el alelo 12 (0.013 y 0.030), mientras que en Nicaragua la frecuencia mínima se observó en los alelos 8, 12, 13, 15 y 19 con una frecuencia de 0,005. Por lo que solo un 0,5% de la población masculina lo posee.

Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS391, se obtiene un poder de discriminación de 52,1% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina. En este marcador se encontraron los alelos 6, 8, 13, 15 y 19, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

Gráfico N°12. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS456, en la población masculina nicaragüense

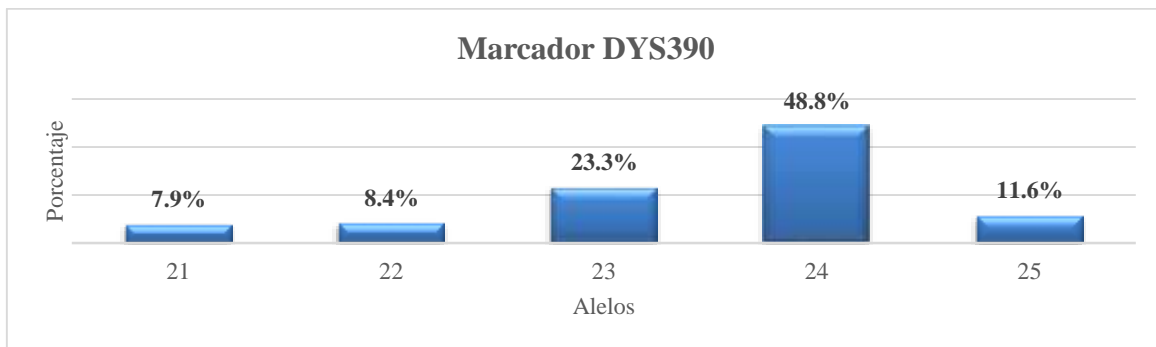


Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

De acuerdo con la escalera alélica el marcador DYS456 comprende desde el alelo 10 hasta el alelo 24. En la población estudiada se observó la presencia de 7 de los 15 alelos del marcador DYS456, caso contrario en la población de México que solo se encontraron 5 alelos. En ambas poblaciones el alelo más predominante fue el alelo 15 con una frecuencia de 0,484 para Nicaragua (se encuentra en un 48,4% de la población), y una frecuencia de 0,439 para México. El alelo menos frecuente en la población de México fue el alelo 13 (0,015), en cambio para la población Nicaragüense fue el alelo 12 con una frecuencia mínima de 0,005. Lo que indica que un 0,5% de la población masculina lo posee.

Este marcador posee un poder de discriminación de 68,4% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen. En este marcador se encontraron los alelos 12 y 18, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

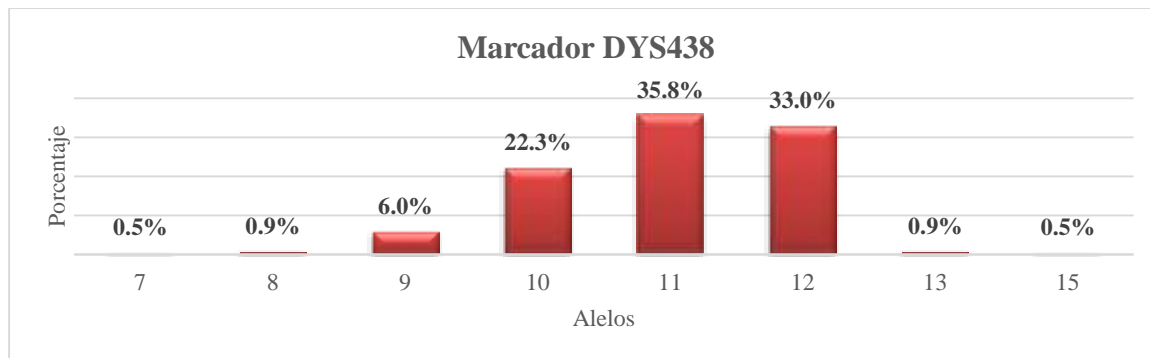
Gráfico N°13. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS390, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

En la población masculina estudiada se encontraron 5 de los 13 alelos que abarca el marcador DYS390, de acuerdo con la escalera alélica este marcador comprende desde el alelo 17 hasta el alelo 29, siendo el más común el alelo 24 para las 3 poblaciones (Nicaragua, el Salvador y México) con una frecuencia de 0,488, 0,493 y 0,615 respectivamente, es decir que un 48,8% de la población masculina nicaragüense lo posee. No obstante, los alelos menos frecuentes varían de acuerdo a cada población. Siendo menos predominante el alelo 21 con una frecuencia mínima de 0,079 para Nicaragua (se encuentra en el 7,9% de la población estudiada), el alelo 26 con una frecuencia de 0,013 para el Salvador y los alelos 20 y 21 con una frecuencia de 0,007 para México. Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS390, se obtiene un poder de discriminación de 68,1% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

Gráfico N°14. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS438, en la población masculina nicaragüense

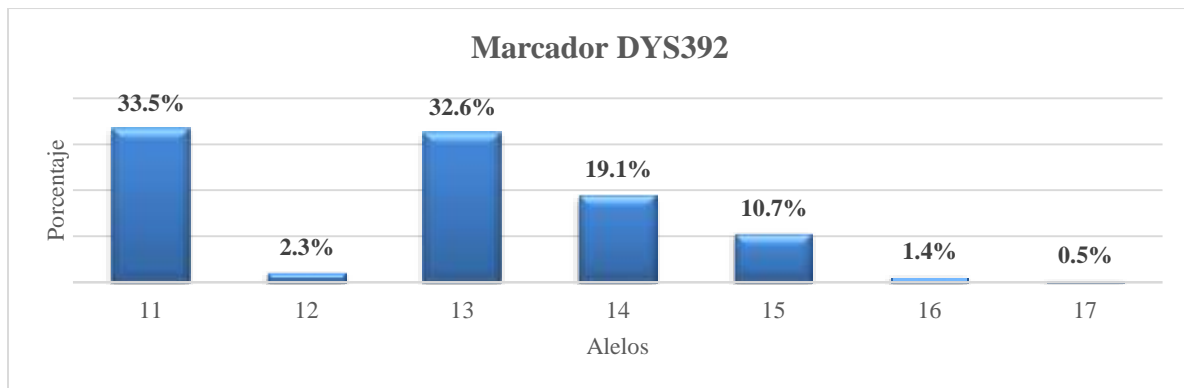


Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

En el marcador DYS438 se encontraron 8 alelos para la población viril nicaragüense, número que se reduce para el Salvador y México. En este estudio el alelo 11 resalta con una frecuencia de 0,358; es decir que está presente en un 35,8% de la población estudiada. En cambio para el Salvador el alelo más frecuente fue el alelo 12 (0,393) y para México el alelo 19 (0,439). Por otra parte los alelos con las frecuencias más bajas fueron el alelo 7 y el alelo 15 ambos con una frecuencia de 0,005 por tanto el 0,5% de la población viril nicaragüense lo posee, mientras que para el Salvador es el alelo 9 con 0,020. Para México los alelos menos frecuentes fueron el 17 y 22 (0,024). Por tanto, el alelo 7 está presente en un 2,0% de la población viril de Nicaragua.

Este marcador posee un poder de discriminación de 70,9% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen. En este marcador se encontraron los alelos 7, 8 y 15, los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

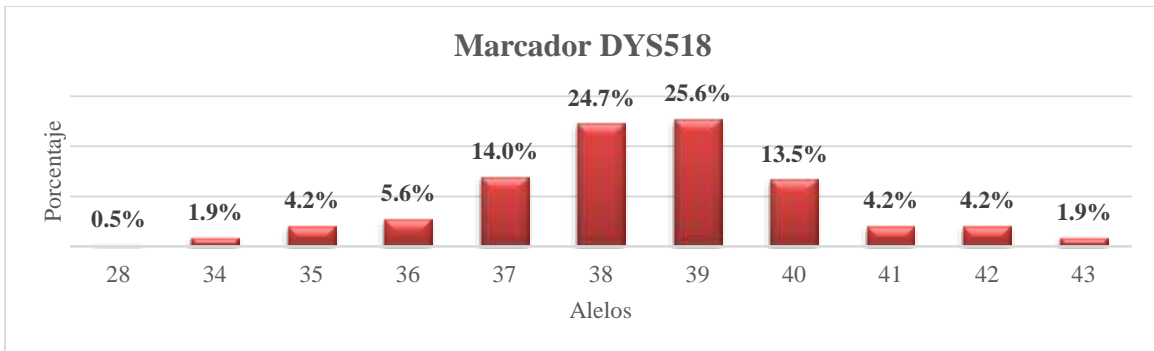
Gráfico N°15. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS392, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

El marcador DYS392 según la escala alélica está comprendido por 17 alelos que van desde el alelo 4 hasta el alelo 20. En la población masculina Nicaragüense se encontraron 7 alelos para este marcador (véase gráfico N°15), siendo el de mayor frecuencia el alelo 11 con 0,335 por tanto el 35,5% de la población Nicaragüense estudiada posee este alelo. En comparación con el estudio realizado en el salvador donde al igual se encontraron 7 alelos, a diferencia de Nicaragua en la población de el salvador, este marcador está conformado por los alelos 9, 11, 12, 13, 14, 15 y 16, reflejando que el alelo de mayor frecuencia es el alelo 13 con una frecuencia de 0,4333, sin embargo en el estudio de la población de Zacatecas, México cuyo marcador está compuesto por 6 alelos que van desde el alelo 11 al alelo 16 siendo el de mayor frecuencia el alelo 13 con 0,4390. Por otra parte el alelo que en menor frecuencia se observó en Zacatecas fue el alelo 12 con 0,0461, en la población de el salvador fue el alelo 9 con 0,0067 mientras que en la población nicaragüense el alelo de menor frecuencia corresponde al alelo 17 con 0,005 (0,5% de la población posee este alelo). Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS392, se obtiene un poder de discriminación de 73,3% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

Gráfico N°16. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS518, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Según la escalera alélica del marcador DYS518 que se encuentra conformado por 18 alelos (desde el alelo 32 hasta el alelo 49), en Nicaragua se observaron 11 alelos (véase en el gráfico N°16) para este marcador, el alelo que presenta la mayor frecuencia en la población masculina estudiada es el alelo 39 representada con el 0,256 en otras palabras el 25,6% de la población Nicaragüense estudiada posee este alelo. Al igual se observa el alelo que presenta la menor frecuencia, siendo este el alelo 28 representado con el 0,005, dicho esto solamente el 0,5% de la población masculina estudiada posee este alelo. Este marcador posee un poder de discriminación de 82,7% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

Gráfico N°17. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS570, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Para el marcador DYS570 en la población Nicaragüense se encuentran presente 9 alelos (reflejados en el gráfico N°17) de los 17 alelos que según la escalera alélica están distribuidos desde el alelo 10 hasta el alelo 26. Siendo en Nicaragua el alelo 17 el de mayor frecuencia con 0,298 dicho esto, el porcentaje de la población que posee este alelo se encuentra en un 29,8%. Por otra parte, el alelo 22 y el alelo 23 reflejaron menor frecuencia para este marcador con un 0,009 que representa un 0,9% de la población masculina estudiada. Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS570, se obtiene un poder de discriminación de 78,9% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

Gráfico N°18. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS437, en la población masculina nicaragüense



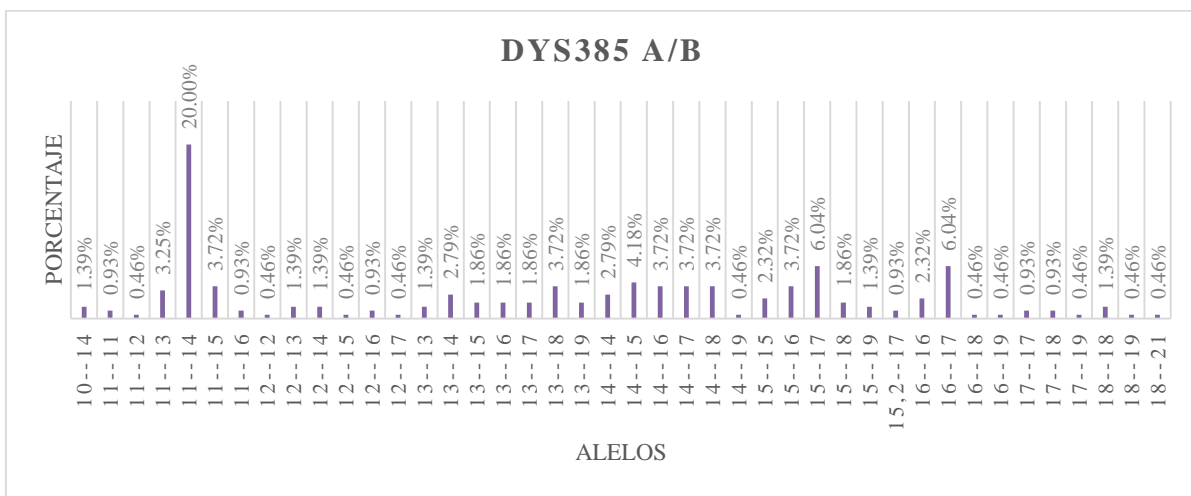
Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

El marcador DYS437 está compuesto por 9 alelos, según la escalera alélica están distribuidos desde el alelo 10 al alelo 18. En la población de Nicaragua se encuentran presente 5 alelos (véase en el gráfico N°18) para este marcador. El cual el alelo de mayor frecuencia es el alelo 14 representado por 0,558 por ende el 58,8% de la población masculina estudiada posee este alelo. Comparado con la población de el Salvador cuyos alelos encontrados fueron 4 conformados por el alelo 12, 14, 15, 16, siendo el de mayor frecuencia el alelo 14 con el 0,5267, mientras que en la población de Zacatecas, México también se encontraron 4 alelos distribuidos desde el alelo 13 al alelo 16, donde el alelo 14 es el que posee la mayor frecuencia mostrando una cierta similitud entre las poblaciones de El Salvador y Nicaragua. Por otro lado, el alelo en que menor frecuencia se encontró en Zacatecas fue el alelo 13 con 0,0230 en el salvador fue el alelo 12 con el 0,0067 mientras que en

Nicaragua fue el alelo 13 cuya frecuencia es de 0,005 mostrando similitud con la población de zacatecas en México.

Este marcador posee un poder de discriminación de 56% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen. En dicho marcador se encontró el alelo 17, éste no ha sido reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador y México.

Gráfico N°19. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS385 a/b, en la población masculina nicaragüense



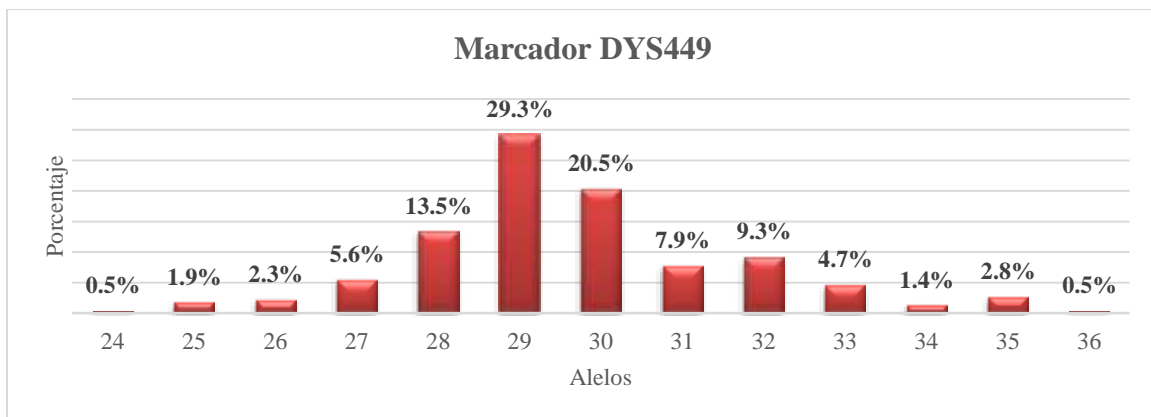
Fuente: Tabla 4. Frecuencias alélicas del marcador DYS385 a/b.

El marcador DYS385 a/b cuya escalera alélica se encuentra desde el alelo 6 hasta el alelo 28 conteniendo 23 alelos en total. En Nicaragua se observaron 44 combinaciones alélicas para este marcador (véase en el grafico N°19), destacándose la combinación alélica 11/14 al ser la que posee mayor frecuencia en la población con un 0,2 reflejando que al menos el 20% de la población masculina en Nicaragua la posee, de la misma manera el estudio de la población de El Salvador cuya combinación alélica 11/14 fue quien obtuvo una mayor frecuencia con 0,3133, así mismo en la población de Zacatecas, México la combinación alélica 11/14 fue quien mayor frecuencia representó con 0,2538 poniendo en manifiesto la similitud en las combinaciones alélicas de mayor frecuencia de las 3 poblaciones. Por otra parte las combinaciones alélicas de menor frecuencia obtenidas en Nicaragua fueron un total de 10 con 0,046 mientras que en el estudio realizado en El

Salvador fueron en total 7 combinaciones alélicas de menor frecuencia representada por el 0,0067 a diferencia de la población estudiada en Zacatecas, México cuyos alelos de menor frecuencia fueron 11 con 0,0076.

Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS385 a/b, se obtiene un poder de discriminación de 93,5% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina. En dicho marcador se encontraron los alelos 10-14, 11-11, 11-16 (y otros que se detallan en la tabla N°16 en el anexo 6) los cuales no se han reportado en estudios de poblaciones cercanas, tal es el caso de El Salvador.

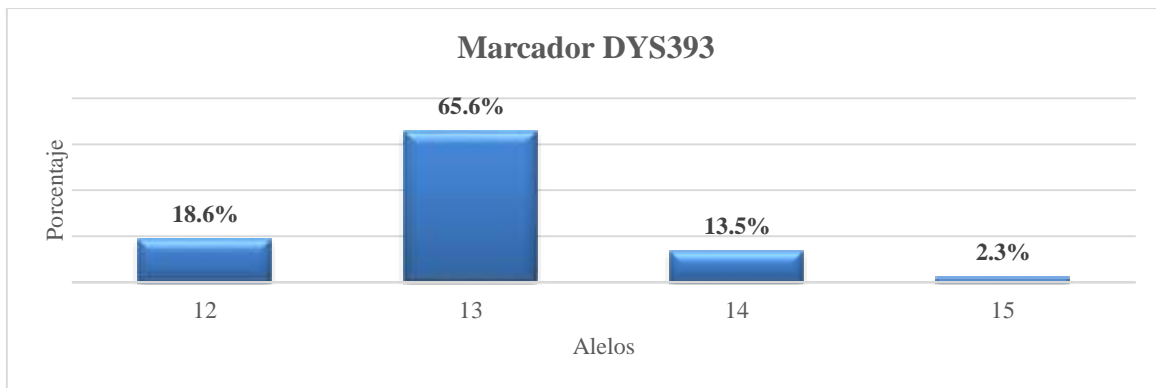
Gráfico N°20. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS449, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Según el kit Y filer plus, el marcador DYS449 contiene 19 alelos cuya distribución se encuentra desde el alelo 22 al alelo 40. En el estudio realizado en la población masculina Nicaragüense se obtuvieron un total de 13 alelos (véase en el gráfico N°29), de los cuales el que obtuvo una mayor frecuencia en comparación al resto fue el alelo 29 que se encuentra representado por el 0,293 dicho esto el 29,3% de la población masculina estudiada posee este alelo. Al mismo tiempo se observa el alelo de menor frecuencia, siendo los alelos 24 y 36, cuya frecuencia observada fue de 0,005 por ende al menos el 0,5% de la población en estudio posee este alelo. Este marcador posee un poder de discriminación de 83,2% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

Gráfico N°21. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS393, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

La escalera alélica para el marcador DYS393 se encuentra conformada por un total de 12 alelos, mismos que van desde el alelo 7 al alelo 18. En la población nicaragüense para este marcador se encontraron un total de 4 alelos (ver gráfica N°21) de los cuales el de mayor frecuencia es el alelo 13 con 0,656 representado al menos un 65,6% de la población estudiada. En comparación con la población de El Salvador en donde igual se encontraron 4 alelos, que van desde el alelo 12 hasta el alelo 15, el alelo que representó mayor frecuencia fue el alelo 13 con 0,7667, así mismo en la población de Zacatecas, México el alelo más frecuente fue el alelo 13 representado por el 0,7384 similar al de las poblaciones de El Salvador y Nicaragua. Por otra parte el alelo en donde se observó la menor frecuencia en la población de El Salvador fue el alelo 15 con 0,0067, en la población de Zacatecas el alelo de menor frecuencia fue el alelo 8 con 0,0076 y en la población de Nicaragua fue el alelo 15 representado por el 0,023 mostrando una similitud con la población de El Salvador. Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS393, se obtiene un poder de discriminación de 51,7% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

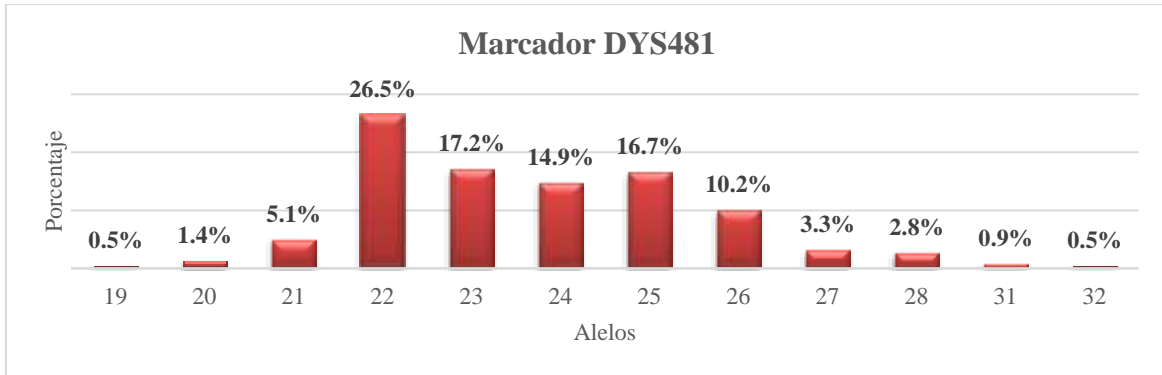
Gráfico N°22. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS439, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

La escalera alélica para el marcador DYS439 se encuentra distribuida desde el alelo 6 hasta el alelo 17 (total de 12 alelos para este marcador). En la población masculina de Nicaragua se observaron un total de 5 alelos (véase en el grafico N°22), en donde el alelo que presentó una mayor frecuencia en comparación a los demás fue el alelo 12 representado con 0,437 dicho esto, al menos un 43,7% de la población masculina Nicaragüense posee este alelo. Así mismo en la población de El Salvador se encontraron 6 alelos de los cuales resalta el alelo 12 siendo este el de mayor frecuencia, representado por el 0,4667, al igual que en el estudio realizado en Zacatecas, México el alelo de mayor frecuencia fue el alelo 12 con 0,4153, por lo tanto se observó que las 3 poblaciones poseen similitud en el alelo de mayor frecuencia. Por otro lado se observó que el alelo 14 es el que muestra la menor frecuencia con 0,009, lo que sugiere que está presente en el 0,9% de la población nicaragüense, mientras que en El Salvador el alelo de menor frecuencia es el alelo 15 con 0,0067 y en la población de Zacatecas cuyo alelo menos frecuente fue el alelo 10 con 0,0615. Este marcador posee un poder de discriminación de 66,3% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

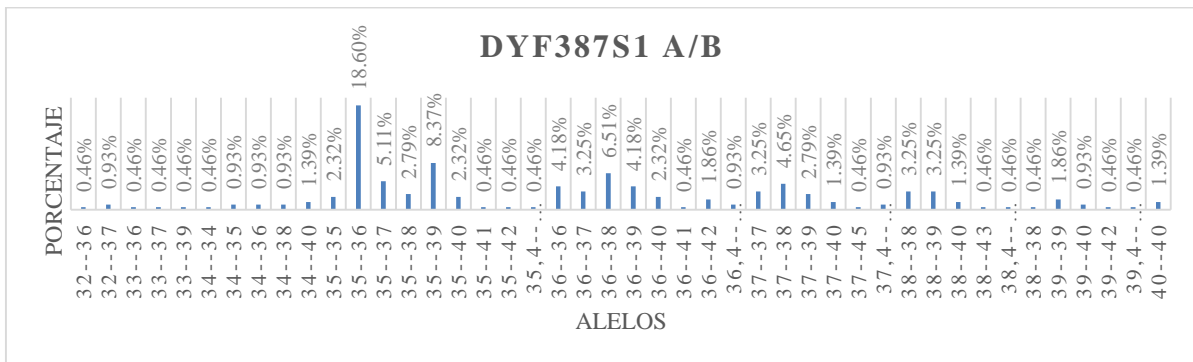
Gráfico N°23. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS481, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla 1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

El marcador DYS481 cuya escalera alélica se encuentra desde el alelo 17 al alelo 32 para un total de 16 alelos. En la población masculina estudiada se encontraron 12 alelos (véase gráfico N°23) cuyo alelo de mayor frecuencia fue el alelo 22 representado por el 0,265 por lo tanto al menos el 26,5% de la población Nicaragüense posee este alelo. Al igual se observó que alelo de menor frecuencia para este marcador fueron los alelos 19 y 32 representada por el 0,005 reflejando que al menos 0,5% de la población posee cualquiera de ambos alelos. Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS481, se obtiene un poder de discriminación de 83,5% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

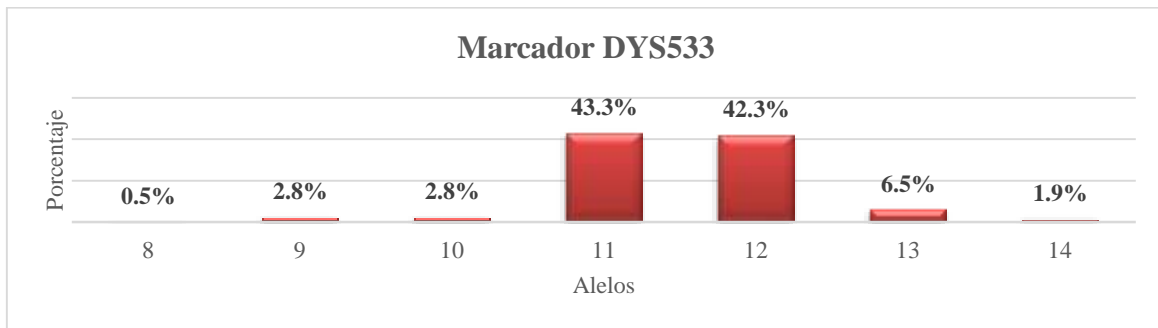
Gráfico N°24. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYF387S1 a/b, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla 5. Frecuencias alélicas del marcador DYF387S1 a/b.

El marcador DYF387S1 a/b cuya escalera alélica está compuesta por 15 alelos distribuidos desde el alelo 30 hasta el alelo 44. En la población nicaragüense se observaron un total de 43 combinaciones alélicas para este marcador (véase en el gráfico N°24), el cual la mayor frecuencia fue observada en la combinación alélica 35/36 representadas con el 0,186 reflejando que al menos el 18,6% de la población masculina estudiada posee esta combinación de alelos. Así mismo, se reflejan 15 combinaciones alélicas de menor frecuencia con 0,046. Por tanto, el 4,6% de la población masculina de Nicaragua lo posee. Este marcador posee un poder de discriminación de 93,6% según la frecuencia de los alelos encontrados para él, lo que indica que dicho marcador es apto para diferenciar a un individuo masculino de otro tomado al azar o bien para diferenciarlo de un vestigio encontrado en una escena del crimen.

Gráfico N°25. Frecuencia de alelos identificados para el marcador DYS533, en la población masculina nicaragüense



Fuente: Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

El marcador DYS533 cuya escalera alélica está conformada por 11 alelos distribuidos desde el alelo 7 hasta el alelo 17. En la población Nicaragüense estudiada se observaron 7 alelos (véase en el gráfico N°25), dentro de los mismos el que representa mayor frecuencia es el alelo 11 con 0,433 reflejando que al menos el 43,3% de la población posee este alelo. Así mismo el alelo que menor frecuencia fue encontrado es el alelo 8 con 0,005 por ende solamente el 0,5% de la población estudiada posee este alelo. Dada la frecuencia de los alelos encontrados para el marcador DYS533, se obtiene un poder de discriminación de 62,8% lo que indica que dicho marcador conserva utilidad forense para poder discriminar a un individuo del total de la población masculina.

De acuerdo al análisis de las 25 gráficas, realizando la comparación poblacional con los estudios de el Salvador y México, se logra observar una gran coincidencia entre los alelos comunes de estas

dos poblaciones con la población masculina nicaragüense. Cotejando los resultados por cada población se pone de manifiesto que la población masculina de el Salvador y la de Nicaragua conservan una escasa diferencia con respecto a sus alelos predominantes, puesto que hay concordancia en 9 de los 12 loci incluidos en el estudio de el Salvador. Del mismo modo, la población nicaragüense posee grandes similitudes con la población Mexicana en base a los alelos más comunes, encontrándose una coincidencia en 12 de los 16 loci abarcados en la investigación de México.

Las grandes concordancias entre la población masculina de México y el Salvador con la población viril de Nicaragua con respecto a sus alelos predominantes, se deben al hecho de que la población Latinoamericana tiene características alélicas comunes por el simple hecho de pertenecer a un mismo continente.

Sin embargo, existen discordancias entre las frecuencias de los alelos menos comunes para las tres poblaciones antes mencionadas (Nicaragua, el Salvador y México), puesto que la población masculina nicaragüense difiere en 10 de los 12 loci estudiados en la población salvadoreña, de igual manera discrepa en 13 de los 16 loci incluidos en el estudio de México, con respecto a los alelos de frecuencias mínimas.

Esto se puede asociar a mutaciones estables, ya que todos los organismos están sujetos a sufrir cambios en su ADN debido al metabolismo propio o por efecto del medio ambiente, lo que los hace presentar variabilidad genética dentro de una misma especie. Esta variabilidad se debe en gran parte a los procesos evolutivos a través del tiempo. (Tamay, Ibarra, & Velasquillo, 2013)

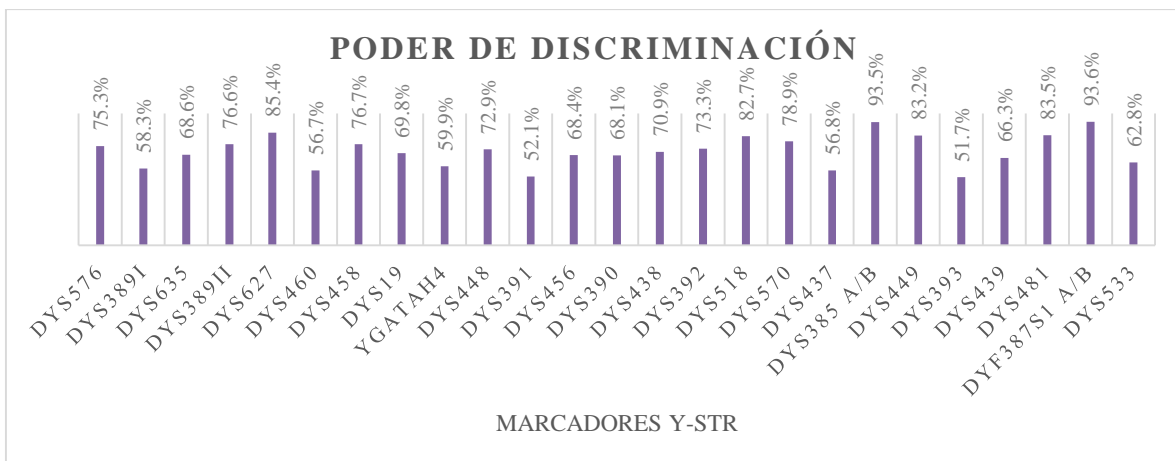
Además se encontraron alelos para los marcadores DYS389II, YGATAH4, DYS448 y DYS391 que no están presentes en la escalera alélica del kit Yfiler Plus, esto no quiere decir que sean alelos inexistentes, sino que son alelos que en la población general son escasamente frecuentes y se conocen como alelos virtuales, ya que han sido registrados en el banco de datos de referencia de haplotipos Y-STR, por sus siglas en inglés YHRD.

Los marcadores ubicados en el cromosoma masculino resultan de gran utilidad en el establecimiento de vínculos biológicos de parentesco, ya que permiten establecer relaciones paterno-filiales, las cuales resultan interesantes desde el punto de vista forense, al igual que relaciones biológicas más alejadas, que resultan útiles desde la perspectiva antropológica.

Asimismo estos marcadores ostentan gran importancia en la investigación de crímenes sexuales con una obvia limitación, que indica que todos los individuos de la misma línea paterna compartirán idéntica información en estos haplotipos, debido a la recombinación limitada de los marcadores de este estudio y el hecho de que posean una herencia en bloque. Dicho de otro modo, todos los parientes masculinos pertenecientes a la línea paterna del individuo tendrán el mismo haplotipo de cromosoma Y, puesto que se transmiten directamente y sin modificaciones de padres a hijos (Martínez González, 2011).

Para poder aplicar estos marcadores en el ámbito forense resulta necesario conocer el poder de discriminación y la probabilidad de coincidencia de cada uno de ellos con respecto a la población estudiada. (Ver el siguiente gráfico)

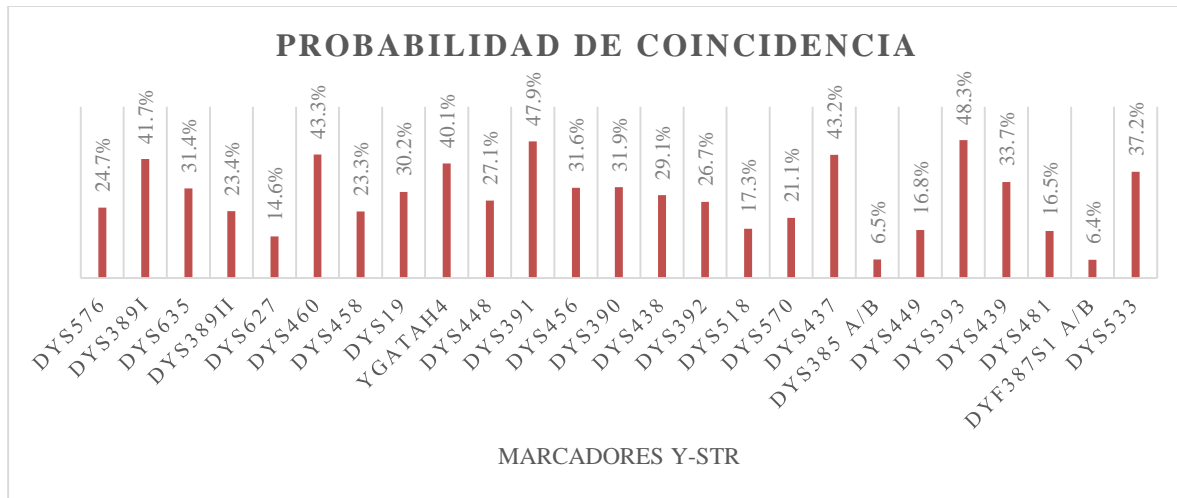
Gráfico N°26. Poder de discriminación de los 25 marcadores Y-STR



Fuente: Programa estadístico Power Stats.

Este gráfico presenta el poder de discriminación que posee cada marcador, se puede observar que los marcadores con mayor poder de discriminación son DYF387S1 a/b, DYS385 a/b, DYS627, DYS481, DYS518, lo que sugiere que existe una alta probabilidad de que dos individuos no relacionados de la misma población y tomados al azar puedan ser diferenciados genéticamente por estos marcadores.

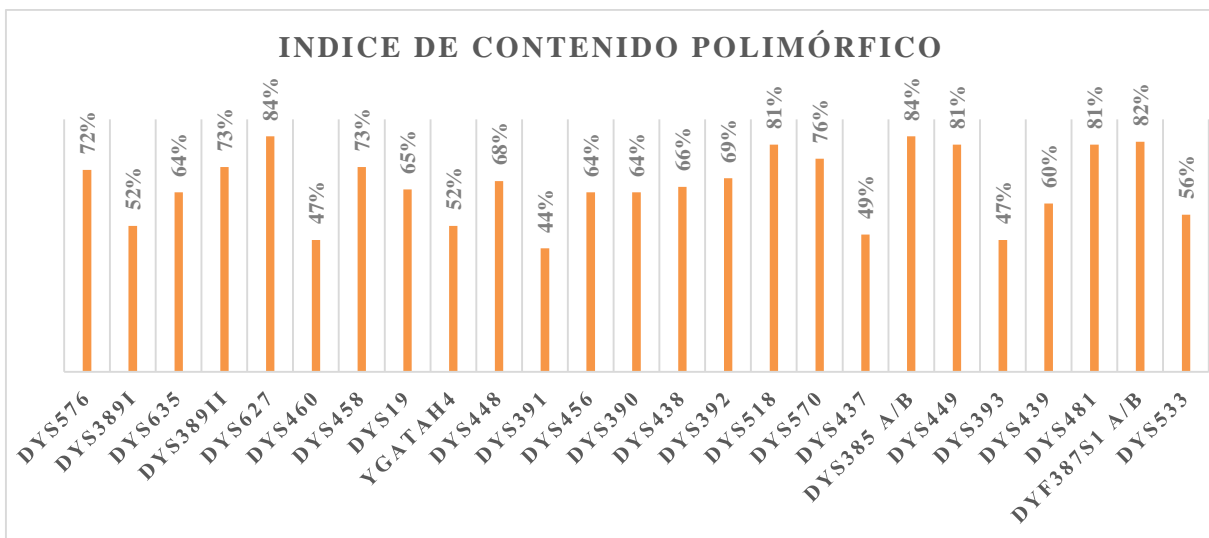
Gráfico N°27. Probabilidad de coincidencia de los 25 marcadores Y-STR



Fuente: Programa estadístico Power Stats.

Según la gráfica N°27 los marcadores de menor probabilidad de coincidencia son DYF387S1 a/b, DYS385 a/b, DYS627, DYS449, DYS481, por tanto estos marcadores poseen mayor efectividad para su uso forense. La probabilidad de coincidencia es la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar tengan haplotipos idénticos en un sistema concreto.

Gráfico N°28. Índice de Contenido Polimórfico de los 25 marcadores Y-STR.



Fuente: Programa estadístico Power Stats.

La gráfica N° 28 exhibe los valores obtenidos del Índice de contenido polimórfico, el cual expresa el grado de diversidad biológica que posee cada marcador Y-STR. El mayor porcentaje se encuentra en los marcadores DYS627 y DYS385 a/b con el 84%, de igual manera se refleja que el marcador con menor índice de contenido polimórfico es el DYS391 con el 44%. La estimación del PIC nos permite clasificar cada marcador según su nivel de polimorfismo y mide la capacidad discriminatoria de los loci, en dependencia del número de alelos y la frecuencia de cada alelo en el marcador.

X. CONCLUSIONES

1. De los 215 datos analizados se logró identificar un total de 215 haplotipos de cromosoma Y, siendo únicos 197; por tanto el 91,63% de la población masculina nicaragüense estudiada posee haplotipos distintos entre sí.
2. Se logró determinar que no todos los alelos de los 25 marcadores Y-STR estaban presentes en la población estudiada, sin embargo se destaca el hallazgo de que en dicha población se encontró la presencia de alelos que no han sido reportados por estudios realizados en las poblaciones cercanas como el Salvador y México.
3. Al calcular las frecuencias alélicas de cada marcador Y-STR se obtuvo que el más predominante de los 48 alelos encontrados, fue el alelo 13 del marcador DYS393 con un porcentaje de 65,6%. Resaltando que no hay grandes diferencias entre las frecuencias alélicas de la población masculina nicaragüense con respecto a las poblaciones cercanas de el Salvador y México, ya que el alelo 13 también exhibe la mayor frecuencia en estas dos poblaciones.
4. Aplicados los parámetros estadísticos forenses, se deduce que la posibilidad de que en la población viril de Nicaragua se encuentren individuos con haplotipos idénticos de cromosoma Y que no pertenezcan a la misma línea paterna es de 0,000001%. Asimismo, se concluye que la probabilidad de que dos individuos no relacionados por vía paterna y seleccionados al azar pueden ser diferenciados genéticamente por los marcadores Y-STR es $> 99,999999\%$. De igual manera, se logra inferir que los marcadores con mayor índice de contenido polimórfico son DYS627 y DYS385 a/b con un 84%.

XI. RECOMENDACIONES

A estudiantes de la carrera de Bioanálisis clínico y profesionales de la salud, dar seguimiento a esta investigación realizando secuenciación de cromosoma Y para caracterizar haplogrupos en la población de Nicaragua.

También recomendamos hacer una investigación sobre la frecuencia de alelos en haplotipos de cromosoma X.

De igual manera recomendamos realizar un estudio del origen genético de la población de Nicaragua con el análisis de ADN mitocondrial.

A la UNAN-Managua, a apoyar nuevas investigaciones que vayan en pro del desarrollo científico del país.

Al Instituto de Medicina Legal que siga implementando nuevos proyectos investigativos de interés científico-académico.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, F. (junio de 2006). Análisis Molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosoma Y en grupos étnicos de Ecuador con aplicación médico-forense. Obtenido de Análisis Molecular de variación de polimorfismos STR autosómicos y de cromosoma Y en grupos étnicos de Ecuador con aplicación médico-forense: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/13742.pdf>
- Anónimo. (marzo de 2015). El ADN. Obtenido de El ADN: <http://www.lacienciaentumundo.com/el-adn/>
- Anónimo. (s.f.). Cromosoma. Obtenido de Cromosoma: <http://www.icarito.cl/2009/12/60-2925-9-cromosomas.shtml/>
- Arias, J., Villasis, M., & Miranda, M. (2016). El protocolo de investigación III: la población de estudio. *Alergia México*, 204-205.
- Austin, C. (s.f.). ADN (Ácido Desoxirribonucleico). Obtenido de ADN (Ácido Desoxirribonucleico): <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/ADN-acido-Desoxirribonucleico>
- Bausate, J. (Abril de 2016). Código de ética para la investigación . Obtenido de código de ética para la investigación : <http://www.bausate.edu.pe/investigacion/images/docpdf/Codigo.de.Etica.pdf>
- Bermeo, T. (2015). Laboratorio de ADN, Fiscalía General de Estado. Obtenido de Laboratorio de ADN, Fiscalía General de Estado: <https://slideplayer.es/slide/1648813/>
- Bernal, C. (2010). Metodología de la Investigación. Bogotá: Pearson Educación.
- Blanco, A. J. (julio de 2008). Linajes del cromosoma Y humano: aplicaciones genético-poblacionales y forenses. Obtenido de linajes del cromosoma Y humano: aplicaciones genético-poblacionales y forenses: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2500/9788498871609_content.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bravo, C. (20 de julio de 2018). Ayuda en acción. Obtenido de Tipos de migración humana: <https://ayudaenaccion.org/ong/blog/ayuda-humanitaria/tipos-de-migracion-humana/>
- Castagnino, M. (s.f.). Electroforesis. Obtenido de Electroforesis: <http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Electroforesis-capilar.pdf>

- Checa, M. A. (15 de agosto de 2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. Medigraphic, 215-216. Obtenido de Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones: <https://www.medigraphic.com/pdfs/iner/in-2007/in073h.pdf>
- Chopin, M. (2012). Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. Medigraphic, 86-89.
- Cortés, M., & Iglesias, M. (2004). Generalidades sobre Metodología de la Investigación. Campeche: Universidad Autónoma del Carmen.
- Díaz, L. (2010). Analisis de 17 loci de STR de cromosoma Y, en las poblaciones de Bogotá y santander con fines genético poblacionales y forenses. obtenido de analisis de 17 loci de str de cromosoma y en las poblaciones de bogota y santander con fines genético poblacionales y forenses: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/820/cien21.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Entrala, C. (s.f.). Técnicas de análisis del adn en genética forense. Obtenido de técnicas de análisis del adn en genética forense: <https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/forensetec.htm>
- Hernández Rodríguez, A. W., & Trejo Mendilla , F. d. (2014). Estudio genético poblacional de frecuencias alélicas para 15 marcadores STR presentes en el estado de Zacatecas aplicado a la práctica forense . Archivos de medicina .
- Hernández, A., & Trejo, 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. Obtenido de Estudio Genético Poblacional de Frecuencias Alélicas para 15 marcadores STR presentes en la Población del Estado de Zacatecas Aplicado a la Práctica Forense: <https://www.archivosdemedicina.com/medicina-de-familia/estudio-gentico-poblacional-de-frecuencias-allicas-para-15-marcadores-str-presentes-en-la-poblacin-del-estado-de-zacatecas-aplicado-a-la-prctica-forense.pdf>
- Martínez, L. J. (2011). Estructura Genética de la Población de Guatemala. Obtenido de Estructura Genética de la Población de Guatemala: <https://hera.ugr.es/tesisugr/20353716.pdf>
- Monterrosa, J. C. (2014). Datos de la población de 12 loci STR del cromosoma Y en una muestra de el Salvador . Elseiver editorial system para medicina legal.
- Núñez, C. (2011). Análisis de ADN mitocondrial y de polimorfismos genéticos de los cromosomas autosómicos y sexuales de la población mestiza de Nicaragua. Obtenido de Análisis de ADN mitocondrial y de polimorfismos genéticos de los cromosomas

autosómicos y sexuales de la población mestiza de Nicaragua:
<https://zaguan.unizar.es/record/7014/files/TESIS-2012-014.pdf>

Osatinsky, R. (2007). Electroforesis Capilar (CE). Redalyc, 60-66.

Pineda, E., & Alvarado, E. (2008). Metodología de la Investigación. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud.

Quevedo, F. (Diciembre de 2011). La prueba de Chi-cuadrado. Obtenido de La prueba de Chi-cuadrado: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Series/MBE04/5266>

Rodríguez, A., Floresvillar, J., & Meza, A. (2014). Reacción en cadena de la polimerasa. En A. Salazar, A. Sansoval, & J. Armendáriz, *Biología Molecular: Fundamentos y Aplicaciones en las ciencias de la salud* (págs. 145-155). México: McGraw-Hill.

Rojas, A. C. (25 de mayo de 2017). Haplotipo – Conogasi. Obtenido de Haplotipo – Conogasi: <http://conogasi.org/diccionario/haplotipo/>

Rotimi, C. (s.f.). Deriva genética. Obtenido de Deriva genética: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Deriva-genetica>

Say Rodríguez , N. R., & Monzón Pineda , M. D. (04 de Enero de Enero de 2018). Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala. Obtenido de INACIF: <https://www.inacif.gob.gt/index.php/servicios/k2-blog/item/23-aplicacion-del-programa-m-fisys>

Sevilla , M., Olivas, Y., & Montiel, K. (2017). Frecuencia de alelos predominantes en la población de Nicaragua mediante el análisis de ADN humano utilizando marcadores microsatélites del kit Golbalfiler express. Managua.

Tamay, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Medigraphic, 70-78.

ThermoFisher. (2016). Kit de amplificación por PCR Yfiler™ Plus. Obtenido de Kit de amplificación por PCR Yfiler™ Plus: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4482730#/4482730>

Tobella, J. S. (18 de febrero de 2019). Polimorfismo Genético. Obtenido de Polimorfismo Genético: <https://www.eugenomic.com/es/home/genomica/glossary/p/Polimorfismo.html>

USC. (s.f.). Tipos de marcadores genéticos. Obtenido de Tipos de marcadores genéticos: https://www.usc.gal/gl/institutos/incifor/xeneticaforense_conceptos_tipospolimorfismos.html

- Uvigen. (s.f.). Genética de poblaciones. Obtenido de Genética de poblaciones:
<http://uvigen.fcien.edu.uy/utem/Popgen/popeq.html>
- Vallín, E., & Trejo, F. (28 de marzo de 2012). Genética Poblacional del Cromosoma Y. Obtenido de Genética Poblacional del Cromosoma Y:
<http://dialnet.unirioja.es/descarga/genetica>
- Villalobos, H. R. (21 de julio de 2003). La huella genetica exclusiva de varones: su importancia en antropologia y ciencias forenses. Obtenido de la huella genetica exclusiva de varones: su importancia en antropologia y ciencias forenses:
<http://www.siicsalud.com/des/expertoimpreso.php/20134>
- Wilson, J. B. (s.f.). *Haplotipo* | NHGRI. Obtenido de Haplotipo | NHGRI:
<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Haplotipo>

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Tabla1. Frecuencias alélicas de 23 marcadores Y-STR.

Alelo	DYS576	DYS389I	DYS635	DYS389II	DYS627	DYS460	DYS458	DYS19	YGATAH4	DYS448	DYS391	DYS456	DYS390	DYS438	DYS392	DYS518	DYS570	DYS437	DYS449	DYS393	DYS439	DYS481	DYS533	
6											0,009													
7														0,005										
8											0,005			0,009										0,005
9						0,019			0,009		0,037			0,06										0,028
10						0,437			0,009	0,005	0,614			0,223								0,023		0,028
11						0,488		0,005	0,395		0,316			0,358	0,335							0,312		0,433
12		0,186				0,056		0,009	0,488		0,005	0,005		0,33	0,023					0,186	0,437			0,423
13		0,577					0,005	0,293	0,079		0,005	0,009		0,009	0,326			0,005		0,656	0,219			0,065
14	0,009	0,223					0,023	0,419	0,014			0,158			0,191			0,558		0,135	0,009			0,019
15	0,065	0,014					0,107	0,191		0,005	0,005	0,484		0,005	0,107		0,019	0,335		0,023				
15,2																								
16	0,084				0,014		0,255	0,065				0,209			0,014		0,135	0,088						
16,2							0,005																	
17	0,233				0,023		0,363	0,019				0,112			0,005		0,298	0,014						
17,2							0,033																	
18	0,4		0,005		0,135		0,144			0,116		0,023					0,27							
18,2					0,009		0,009																	
19	0,13		0,009		0,144		0,042			0,372	0,005						0,144							0,005
20	0,065		0,037		0,153		0,014			0,298							0,098							0,014
21	0,009		0,209		0,191					0,172			0,079				0,019							0,051
22	0,005		0,191		0,191				0,005	0,033			0,084				0,009							0,265
23			0,479	0,005	0,088								0,233				0,009							0,172
24			0,047	0,009	0,042								0,488						0,005					0,149
25			0,019		0,009								0,116						0,019					0,167
26			0,005																0,023					0,102
27				0,014															0,056					0,033
28				0,13												0,005			0,135					0,028

29				0,279															0,293				
30				0,321															0,205				
31				0,186															0,079			0,009	
32				0,037															0,093			0,005	
33				0,014															0,047				
34				0,005												0,019			0,014				
35																0,042			0,028				
35,4																							
36																0,056			0,005				
36,4																							
37																0,14							
37,4																							
38																0,247							
38,4																							
39																0,256							
39,4																							
40																0,135							
41																0,042							
42																0,042							
43																0,019							
45																							
PD	0,753	0,583	0,686	0,766	0,854	0,567	0,767	0,698	0,599	0,729	0,521	0,684	0,681	0,709	0,733	0,827	0,79	0,568	0,832	0,517	0,663	0,835	0,628
PC	0,247	0,417	0,314	0,234	0,146	0,433	0,233	0,302	0,401	0,271	0,479	0,316	0,319	0,291	0,267	0,173	0,211	0,432	0,168	0,483	0,337	0,165	0,372
PIC	0,72	0,52	0,64	0,73	0,84	0,47	0,73	0,65	0,52	0,68	0,44	0,64	0,64	0,66	0,69	0,81	0,76	0,49	0,81	0,47	0,6	0,81	0,56

Fuente: programa estadístico Power Stats.

Anexo 2. Tabla 2. Haplotipos de Cromosoma Y, y sus frecuencias en la población masculina nicaragüense estudiada.

Haplotipos	DYS576	DYS389I	DYS635	DYS389II	DYS627	DYS460	DYS458	DYS19	YGATAH4	DYS448	DYS391	DYS456	DYS390	DYS438	DYS392	DYS518	DYS570	DYS437	DYS385 a/b	DYS449	DYS393	DYS439	DYS481	DYS387SI a/b	DYS533	N	Frecuencia
H1	19	12	23	30	19	10	15	12	12	19	10	15	25	11	14	35	17	14	16--17	30	13	11	24	34--40	11	1	0,0047
H2	17	13	21	30	20	9	15	13	12	20	10	15	25	11	14	35	17	14	16--17	30	13	11	24	34--40	11	1	0,0047
H3	17	14	23	30	20	11	18	14	12	19	11	15	23	12	13	37	18	15	11--14	33	13	12	22	35--36	12	1	0,0047
H4	18	12	20	28	23	11	16	15	13	21	10	15	22	11	11	37	17	16	14--14	27	14	11	23	36--39	9	1	0,0047
H5	16	13	22	31	17	10	15	13	12	21	10	14	23	11	15	41	20	14	14--15	31	13	13	25	34--40	12	1	0,0047
H6	18	13	22	31	21	10	17	13	13	18	10	15	23	11	14	37	18	14	13--18	32	13	13	24	35--35	12	1	0,0047
H7	18	13	23	29	23	11	17	14	12	19	11	17	24	12	13	39	17	15	11--14	29	13	12	22	35--37	12	1	0,0047
H8	17	13	21	31	25	9	16	13	11	20	10	17	24	10	11	39	21	14	16--16	31	13	11	22	35--38	12	1	0,0047
H9	15	12	21	30	22	10	17	15	12	21	11	15	21	11	11	39	19	14	16--17	28	13	13	27	37--38	11	1	0,0047
H10	16	12	22	28	21	10	16	16	11	19	10	13	24	10	11	38	19	14	13--16	28	12	11	24	35--35	11	1	0,0047
H11	17	13	21	31	22	10	17	15	12	21	10	15	21	11	11	38	19	14	16--17	28	13	11	28	37--39	11	1	0,0047
H12	17	13	23	29	18	11	18	13	12	21	10	16	24	11	13	39	18	13	13--17	33	13	12	24	35--39	11	1	0,0047
H13	17	13	21	29	19	11	16	15	11	21	10	17	21	11	11	40	17	14	16--19	30	15	11	25	39--38	11	1	0,0047
H14	18	13	23	29	22	10	16	14	12	19	11	15	24	12	12	38	18	15	11--14	31	13	12	22	36--36	12	1	0,0047
H15	18	12	23	28	22	11	15	14	12	19	11	16	24	12	13	37	16	15	10--14	28	13	12	22	36--37	12	1	0,0047
H16	18	12	23	28	21	11	18	13	12	20	9	15	25	11	13	42	17	14	13--18	28	13	13	26	35--40	11	3	0,0140
H17	19	13	23	29	19	11	16	14	12	19	10	16	24	12	14	40	19	15	11--14	32	14	12	22	35--35	12	1	0,0047
H18	18	13	21	28	21	11	20	14	11	19	10	16	25	9	11	41	16	15	13--16	27	12	13	23	39--39	12	1	0,0047
H19	19	14	24	30	21	12	16	14	12	20	11	15	24	12	13	41	17	15	11--14	32	13	11	22	35--35	12	1	0,0047
H20	17	12	21	28	18,2	11	16	15	12	19	11	14	24	10	11	34	20	15	17--18	30	12	13	24	36--38	10	1	0,0047
H21	19	13	23	28	23	11	17	14	12	18	11	17	25	12	14	36	17	15	11--13	30	13	12	25	36--37	13	1	0,0047
H22	18	13	23	29	22	11	17	14	12	19	11	15	24	12	13	38	16	15	11--14	29	13	11	22	35--37	13	1	0,0047
H23	18	13	21	31	19	10	15	15	11	21	10	16	24	11	11	37	18	14	15--16	33	14	11	25	38--40	11	1	0,0047
H24	17	13	21	31	22	10	17	15	12	21	10	15	21	11	11	38	19	14	16--17	28	13	11	28	37--39	11	1	0,0047
H25	19	13	23	30	24	11	16	14	12	19	10	16	24	12	13	38	17	15	11--14	30	13	12	23	33--37	12	1	0,0047
H26	15	13	21	29	21	10	16	15	11	22	10	15	21	10	11	39	17	15	13--15	27	14	12	21	38--50	10	1	0,0047
H27	16	13	23	28	20	9	15	13	11	20	10	17	24	10	11	37	19	14	16--18	33	14	12	20	36--38	12	1	0,0047

H28	17	13	23	30	21	10	16	15	11	21	10	14	23	9	11	37	17	15	13--18	29	12	11	21	36--39	11	1	0,0047
H29	18	13	21	30	20	11	17,2	14	11	21	10	14	23	10	11	39	17	14	13--19	25	12	13	25	38--38	12	1	0,0047
H30	16	14	22	31	19	10	15	14	12	20	10	15	24	12	14	39	15	14	14--18	28	12	11	26	37--40	11	1	0,0047
H31	18	14	23	33	22	11	18	14	12	19	11	15	24	12	13	40	17	16	11--15	29	13	12	21	35--36	12	1	0,0047
H32	18	12	23	28	22	10	17	14	12	19	11	17	24	12	13	39	16	15	13--14	31	13	12	22	35--37	12	1	0,0047
H33	17	13	23	29	18	10	18	13	12	20	10	15	23	11	15	39	19	14	14--18	33	13	13	24	35--39	11	1	0,0047
H34	20	14	23	31	18	11	17	13	12	19	10	14	24	11	15	42	18	14	15--17	30	13	12	23	36--38	11	3	0,0140
H35	17	14	22	33	20	11	17	13	13	22	10	15	24	11	14	38	16	15	15--17	32	12	11	25	37--38	12	1	0,0047
H36	18	13	23	29	22	11	17	14	13	19	11	16	24	12	13	40	18	15	11--14	32	13	12	21	35--36	12	1	0,0047
H37	20	14	23	32	19	10	18	13	11	20	11	14	24	11	15	38	20	14	14--18	30	13	12	24	35--41	11	1	0,0047
H38	17	12	23	28	22	10	17	14	11	18	11	17	25	12	13	39	16	14	11--14	29	13	13	22	35--36	12	2	0,0093
H39	20	13	22	31	18	10	17	13	12	21	10	15	23	12	14	40	18	14	16--17	29	13	12	24	35--39	12	2	0,0093
H40	19	13	23	30	22	11	17	14	11	18	11	16	24	12	13	35	18	14	11--14	29	13	13	22	35--36	12	1	0,0047
H41	20	15	22	31	20	10	16	14	11	20	11	15	24	11	14	36	17	14	13--16	29	12	11	24	35--38	11	1	0,0047
H42	18	14	23	32	20	10	18	13	12	22	10	16	24	11	14	38	17	15	14--17	29	12	12	24	36--39	11	1	0,0047
H43	18	13	23	30	20	11	18	13	11	20	10	14	24	11	15	39	18	14	14--17	29	13	13	23	37--40	11	1	0,0047
H44	18	13	23	30	23	11	17	14	12	19	11	15	23	12	13	38	19	14	11--14	29	13	12	26	35--36	12	1	0,0047
H45	18	13	22	29	21	10	17,2	15	12	20	10	14	24	10	11	39	20	15	18--18	29	12	13	24	39--40	12	1	0,0047
H46	18	13	21	31	21	10	15	15	10	20	11	15	24	10	11	43	21	14	13--18	32	12	11	25	36--36	8	1	0,0047
H47	19	13	21	31	21	11	17,2	14	11	21	10	14	23	10	11	39	17	14	13--19	25	12	12	24	37--39	12	1	0,0047
H48	18	14	23	30	22	11	17	14	12	19	11	15	24	12	13	37	17	15	11--14	30	13	12	22	35--36	13	1	0,0047
H49	17	14	21	30	18	10	18	13	12	20	9	14	24	10	11	43	22	14	13--14	33	13	10	26	36--36	11	1	0,0047
H50	18	13	23	29	21	11	17	14	13	19	11	15	24	12	13	40	18	15	12--13	30	13	12	22	35--37	13	1	0,0047
H51	19	13	23	29	20	10	16	14	12	19	11	15	25	12	14	36	16	15	11--15	30	12	12	24	35--36	12	1	0,0047
H52	18	13	25	30	22	10	16	13	14	19	10	17	24	11	14	35	16	14	14--15	30	13	11	23	40--40	11	1	0,0047
H53	18	13	23	29	21	11	17	14	13	19	11	15	24	12	13	40	18	15	11--13	30	13	12	22	35--37	13	1	0,0047
H54	17	13	21	24	20	10	17,2	14	11	20	10	15	23	10	11	38	18	14	14--17	26	12	11	26	36--38	12	1	0,0047
H55	18	13	23	29	18	10	19	13	12	20	10	15	24	11	15	38	19	14	15--17	35	13	13	24	35--39	11	1	0,0047
H56	18	13	23	29	18	10	19	13	12	20	10	15	24	11	15	38	19	14	15--17	35	13	13	24	35--39	11	1	0,0047
H57	19	13	22	30	19	10	17	13	11	19	10	16	23	11	14	39	20	14	15--16	29	14	12	25	36--37	11	1	0,0047
H58	18	13	23	29	18	10	19	13	12	20	10	15	24	11	15	38	19	14	15--17	35	13	13	24	35--39	11	1	0,0047
H59	18	14	23	31	18	10	18	13	11	20	10	14	25	11	15	39	19	14	14--17	29	13	13	26	36--40	11	1	0,0047

H60	17	14	23	30	21	10	16	12	12	22	10	13	25	11	14	37	17	14	14--18	30	13	13	25	33--39	11	1	0,0047
H61	17	12	24	29	21	10	16	16	11	20	10	14	22	10	11	40	16	15	12--14	29	12	12	28	36--38	14	1	0,0047
H62	18	13	24	30	18	10	16	15	11	19	10	17	21	11	11	40	17	14	17--17	29	14	10	25	37--38	11	1	0,0047
H63	18	13	23	29	19	11	18	15	12	19	10	14	24	13	13	39	18	15	11--11	34	13	13	22	35--36	11	1	0,0047
H64	15	13	21	24	16	11	17	13	11	19	6	16	23	9	15	38	18	14	13--15	30	13	12	23	39--42	10	1	0,0047
H65	18	13	23	34	18	11	18	14	12	19	13	15	22	12	13	37	17	15	11--15	32	13	13	22	35--36	13	1	0,0047
H66	19	13	22	29	23	11	16	13	12	19	10	15	24	15	14	39	17	14	14--16	28	13	11	25	35--39	11	1	0,0047
H67	17	13	21	31	21	10	17	16	12	21	15	15	21	7	11	38	19	14	16--17	24	13	11	28	38--43	14	1	0,0047
H68	17	12	21	28	19	10	15	14	11	20	10	14	22	10	11	38	19	15	13--14	28	13	11	26	37--38	11	1	0,0047
H69	18	14	22	31	18	11	17	13	13	22	10	15	24	11	14	38	17	15	13--18	30	12	12	26	36--40	11	1	0,0047
H70	18	13	22	30	21	10	15	13	12	21	10	15	24	11	14	38	17	14	15--16	32	12	11	23	34--35	11	1	0,0047
H71	18	14	23	31	21	10	17	14	11	19	11	15	25	12	13	38	16	14	11--14	30	13	12	22	35--36	11	1	0,0047
H72	18	13	23	29	22	12	16	14	12	19	11	16	24	12	13	40	17	15	11--14	30	12	11	22	35--37	12	1	0,0047
H73	18	12	18	27	22	11	18,2	14	12	20	11	14	24	10	11	37	18	14	13--17	25	12	12	25	36--37	11	1	0,0047
H74	20	12	22	29	19	10	17	15	9	20	11	15	22	8	11	35	17	17	15--17	31	13	12	27	37--38	12	1	0,0047
H75	17	13	23	30	23	11	16	14	11	19	11	15	23	12	13	38	20	14	11--14	29	13	12	26	35--36	12	1	0,0047
H76	20	14	23	30	23	10	17	14	11	18	11	15	24	12	13	36	17	14	11--14	29	13	12	22	35--36	13	1	0,0047
H77	21	14	23	30	22	10	17	14	11	18	11	16	24	12	13	39	17	14	11--13	29	14	11	22	35--36	13	1	0,0047
H78	15	13	21	30	19	10	17	16	12	21	11	15	21	11	11	40	20	14	17--17	31	13	11	27	36--38	12	1	0,0047
H79	17	12	23	28	22	11	17	14	13	19	11	15	24	11	13	39	16	15	11--14	29	13	12	26	35--36	12	1	0,0047
H80	16	13	23	29	22	9	17	14	11	18	11	15	25	11	14	38	17	14	11--14	27	13	12	22	35--36	12	1	0,0047
H81	22	13	23	31	22	11	17	13	12	20	10	14	24	11	17	38	18	14	14--17	28	12	13	23	36--39	11	1	0,0047
H82	19	13	23	30	20	12	18	13	12	20	10	15	23	11	15	41	20	14	15--19	29	13	12	23	36--41	12	1	0,0047
H83	18	13	23	29	23	11	17	14	11	19	10	16	23	12	13	38	18	14	11--12	29	13	13	22	36--37	11	1	0,0047
H84	19	14	23	31	18	10	17	13	11	20	10	14	24	12	15	40	20	14	14--16	32	13	10	23	35--38	11	1	0,0047
H85	18	14	23	30	23	11	17	14	12	20	10	16	25	12	13	39	20	15	11--14	29	12	12	22	35--36	12	1	0,0047
H86	19	12	23	29	19	11	17	13	12	20	10	14	23	11	15	39	19	14	18--18	29	14	13	24	36--38	11	2	0,0093
H87	19	13	23	31	18	11	15	13	12	20	10	14	24	11	16	38	18	14	13--19	29	13	11	23	35--38	11	1	0,0047
H88	16	12	21	29	18	11	15	15	12	21	10	15	23	10	11	38	18	16	14--15	29	14	13	23	36--39	11	1	0,0047
H89	19	13	19	29	19	12	17	15	11	20	10	15	23	10	12	43	18	15	16--16	27	15	11	25	38--38	11	1	0,0047
H90	17	13	23	30	22	10	16	13	11	21	8	17	22	10	11	39	20	14	12--16	32	13	12	25	35--35	12	1	0,0047
H91	16	13	20	30	18	10	19	16	11	21	10	15	21	11	11	41	18	14	15--19	30	14	12	26	38--39	11	1	0,0047
H92	15	13	21	31	20	10	17	15	12	21	11	15	21	11	11	39	19	14	16--17	28	13	11	28	36--39	11	1	0,0047

H93	17	13	22	30	19	11	16	13	11	19	10	15	24	11	14	37	17	14	16--16	31	13	13	26	36--42	12	2	0,0093
H94	18	14	24	30	22	11	15	14	12	19	11	15	22	12	13	39	18	15	11--15	30	12	12	22	36--36	13	1	0,0047
H95	17	14	23	30	22	10	17	14	12	19	10	17	24	12	14	38	18	15	11--15	30	13	12	21	36--36	12	1	0,0047
H96	18	12	22	28	20	10	15	15	11	20	10	15	23	10	11	39	20	16	14--14	28	13	11	25	37--37	11	1	0,0047
H97	18	12	22	28	20	10	15	15	11	20	10	15	23	10	11	40	20	16	14--14	28	13	11	25	37--37	11	1	0,0047
H98	16	13	20	30	21	10	18,2	14	11	20	10	15	23	10	11	38	18	14	13--18	26	12	11	23	35--39	11	1	0,0047
H99	15	14	22	31	19	11	17	13	11	22	10	15	24	11	14	41	19	15	14--18	31	12	12	24	36--39	11	1	0,0047
H100	18	15	23	31	22	11	18	14	12	18	11	15	25	12	13	37	17	14	11--15	30	13	14	22	34--36	12	1	0,0047
H101	18	14	23	30	22	11	17	14	12	19	10	15	23	12	13	37	17	15	11--14	29	13	13	22	35--36	12	1	0,0047
H102	15	13	23	30	23	11	18	14	12	21	10	17	24	9	11	38	19	15	14--16	32	12	12	20	35--39	9	1	0,0047
H103	18	13	23	29	20	11	17	15	11	19	9	14	24	11	11	42	18	14	15--17	35	13	12	27	37--37	11	1	0,0047
H104	17	13	21	29	20	11	15	15	11	20	11	17	23	10	12	40	20	15	15--15	28	14	12	26	36--40	12	1	0,0047
H105	17	13	23	29	24	11	18	14	12	19	11	17	24	12	13	37	17	15	11--14	30	13	12	23	35--36	12	1	0,0047
H106	15	12	22	28	19	10	13	14	11	18	10	14	22	10	11	38	21	16	13--14	27	13	11	25	38--39	11	1	0,0047
H107	17	12	23	28	23	11	16	14	12	19	11	16	24	12	13	37	16	15	11--14	28	13	11	23	36--37	12	1	0,0047
H108	17	12	22	28	19	10	18	14	12	20	9	15	24	11	13	38	18	14	15--18	27	13	12	25	36--42	11	1	0,0047
H109	16	13	21	31	17	10	16	15	12	21	11	15	21	12	11	38	18	14	16--17	28	13	13	27	37--38	11	1	0,0047
H110	17	13	23	30	21	11	17	14	12	20	11	16	24	12	13	38	16	15	11--14	29	13	11	22	35--36	12	1	0,0047
H111	18	14	22	31	18	11	17	15	22	20	10	16	21	9	14	38	18	14	15,2--17	31	13	13	28	35--39	11	1	0,0047
H112	18	12	20	28	23	12	16	16	13	21	11	15	22	11	11	37	17	16	14--15	27	14	11	23	35--39	9	1	0,0047
H113	18	13	21	31	17	11	17,2	14	11	20	10	16	23	10	11	37	20	14	14--18	26	12	12	25	39--39	11	1	0,0047
H114	17	13	23	30	22	11	16	15	13	20	10	16	24	12	13	38	16	15	11--14	29	13	12	22	34--35	13	1	0,0047
H115	18	12	21	29	18	10	17	14	9	19	10	12	22	8	11	34	15	17	14--14	29	13	12	25	37--37	12	1	0,0047
H116	18	13	23	30	22	11	17	14	12	19	11	15	23	12	13	38	19	14	11--14	29	13	12	26	35--36	12	1	0,0047
H117	16	13	21	27	19	11	17	13	11	19	10	16	23	9	13	38	18	14	13--13	34	13	12	23	37--38	11	1	0,0047
H118	18	13	21	30	20	11	16	15	12	21	10	16	22	10	11	37	19	16	12--17	29	13	11	22	37--39	9	1	0,0047
H119	18	13	20	30	19	11	16	13	12	18	10	15	23	10	11	39	19	14	15--16	34	13	12	23	35--37	12	1	0,0047
H120	16	13	21	30	16	12	18	17	11	21	10	15	21	11	11	41	17	14	17--19	32	15	12	26	38--38	11	1	0,0047
H121	18	13	22	30	20	10	18	13	11	19	10	15	23	11	14	40	18	14	15--17	28	12	11	25	37--45	11	1	0,0047
H122	19	13	23	31	20	10	19	13	11	20	10	14	24	10	16	36	19	14	14--16	30	13	11	26	36--39	11	1	0,0047
H123	18	14	23	30	23	10	17	14	11	18	11	16	24	13	14	38	17	14	11--14	29	13	11	23	35--37	12	1	0,0047
H124	17	13	22	29	19	11	16	14	13	20	10	16	23	11	16	36	19	14	14--18	28	13	12	25	37--38	11	1	0,0047

H125	18	13	24	30	21	12	18	15	11	19	10	16	24	12	13	39	17	15	11--14	29	13	12	23	35--36	12	2	0,0093
H126	19	13	23	29	24	11	16	14	12	19	11	16	24	12	13	38	16	15	10--14	28	13	12	22	36--36	12	2	0,0093
H127	17	12	23	29	24	11	17	14	12	19	10	16	25	12	13	37	17	15	11--11	29	13	11	22	37--37	12	1	0,0047
H128	17	13	20	30	20	10	16,2	14	11	20	10	15	23	10	11	36	18	14	13--17	26	12	11	25	38--38	11	1	0,0047
H129	16	12	19	29	21	12	14	14	11	20	10	15	23	9	11	40	20	15	13--17	28	12	11	22	36--40	11	1	0,0047
H130	17	13	23	23	20	11	16	13	12	20	11	15	25	10	11	35	23	14	19--21	32	13	11	21	35--39	11	1	0,0047
H131	17	12	21	28	18,2	11	16	15	12	19	10	14	24	10	11	34	20	15	17--18	30	12	13	24	36--38	10	1	0,0047
H132	17	13	22	30	19	11	16	13	11	19	10	15	24	11	14	37	16	14	16--17	31	13	13	25	36--42	12	1	0,0047
H133	21	13	22	29	22	11	16	13	13	19	10	15	23	11	14	39	18	14	14--17	31	13	12	25	34--38	11	1	0,0047
H134	18	14	23	32	21	10	19	14	11	18	10	16	24	12	13	39	16	14	11--14	30	13	12	22	35--36	12	1	0,0047
H135	18	14	23	31	21	10	17	14	12	18	11	15	24	12	12	39	17	14	11--14	30	13	11	22	35--36	12	1	0,0047
H136	18	12	22	29	18	10	14	14	11	19	10	14	23	10	11	38	20	16	14--14	28	13	12	25	37--39	11	1	0,0047
H137	17	13	21	32	19	10	16	15	11	21	10	16	24	11	11	37	18	14	15--16	32	14	11	25	37--40	11	1	0,0047
H138	18	14	22	31	20	10	15	13	12	19	6	16	24	11	15	36	15	14	15--16	28	13	11	23	35--42	11	1	0,0047
H139	18	14	21	30	18	11	15	16	11	21	10	17	21	10	11	42	16	14	18--19	32	14	11	25	39--39	11	1	0,0047
H140	18	13	21	29	20	11	15	15	11	20	11	17	23	10	12	40	19	15	15--15	28	14	12	26	36--40	12	1	0,0047
H141	18	13	22	30	17	11	17	17	11	21	10	17	21	11	11	40	18	14	16--17	32	14	13	21	39--39	11	1	0,0047
H142	20	13	21	31	21	11	17,2	14	11	21	10	14	23	10	11	39	18	14	13--19	25	12	12	24	37--39	12	1	0,0047
H143	17	13	23	29	22	11	16	15	12	19	11	15	25	12	13	36	16	15	12--13	30	12	12	22	35--36	12	1	0,0047
H144	19	14	20	32	21	10	17,2	14	11	20	10	15	23	10	11	37	18	14	13--13	26	12	12	25	39--40	11	1	0,0047
H145	15	13	23	29	21	11	18	14	11	18	10	15	25	12	13	39	17	15	11--13	30	13	12	22	32--37	12	1	0,0047
H146	15	13	23	29	21	11	17	14	11	18	10	15	25	12	13	39	17	15	11--13	30	13	12	22	32--37	12	1	0,0047
H147	18	13	25	30	22	10	16	13	14	19	10	17	24	11	14	35	16	14	14--15	30	13	11	23	40--40	11	1	0,0047
H148	17	14	23	31	24	10	17	14	12	19	10	15	24	12	14	39	17	14	11--13	32	14	14	23	35--36	12	1	0,0047
H149	18	13	23	29	18	11	19	13	12	20	10	16	24	11	15	38	19	14	15--17	35	13	12	24	35--39	11	1	0,0047
H150	19	13	22	31	18	10	17	13	12	21	10	15	23	12	14	40	18	14	16--17	30	13	12	24	35--39	12	1	0,0047
H151	18	13	23	29	23	11	16	14	12	19	11	16	24	12	13	28	17	15	11--14	29	13	12	22	37--37	12	1	0,0047
H152	18	14	23	32	19	11	17	13	12	20	10	14	24	11	15	39	17	14	15--17	29	13	11	23	36--38	11	1	0,0047
H153	18	13	23	30	21	11	15	14	12	19	11	16	24	12	13	42	17	15	11--14	28	13	13	22	35--37	12	1	0,0047
H154	17	13	21	30	22	11	17	14	11	19	10	15	22	9	11	38	18	16	15--18	30	12	11	24	35--40	11	1	0,0047
H155	16	13	24	29	20	12	19	14	11	19	10	15	25	11	11	40	18	14	14--19	27	13	13	25	38--38	11	1	0,0047
H156	18	13	25	30	22	10	16	13	14	10	19	17	24	11	14	35	16	14	14--15	30	13	11	23	40--40	11	1	0,0047
H157	16	12	23	29	17	11	16	13	11	18	10	18	24	11	15	38	17	14	15--16	33	13	13	24	34--34	12	1	0,0047

H158	14	14	22	29	19	10	18	16	12	21	10	15	23	10	11	40	20	15	12--12	29	13	11	22	36--36	12	1	0,0047
H159	18	13	25	32	20	11	17	16	11	20	11	15	24	10	11	39	19	15	14--15	33	13	12	31	38--40	13	1	0,0047
H160	17	13	21	30	22	11	17	14	11	19	10	15	22	9	11	38	18	16	15--18	30	12	11	23	35--40	11	1	0,0047
H161	17	13	23	30	21	11	17	14	12	20	11	16	24	12	13	38	16	15	11--14	29	13	11	22	35--36	12	1	0,0047
H162	19	13	24	30	21	11	19	14	12	19	11	15	24	12	13	37	17	15	11--16	29	13	13	22	35--36	12	1	0,0047
H163	18	13	22	30	20	10	16	13	12	18	10	15	24	11	14	41	18	14	15--19	30	13	13	24	35--36	12	1	0,0047
H164	16	14	21	31	21	10	16	17	11	19	10	16	23	9	13	35	19	14	14--16	35	13	11	22	37--38	12	1	0,0047
H165	20	14	23	30	24	11	18	14	12	19	12	16	24	10	13	38	17	16	11--16	29	13	12	22	35--36	12	1	0,0047
H166	18	14	22	31	18	11	16	15	12	20	10	17	23	11	14	39	18	14	15,2--17	31	13	11	27	35--39	11	1	0,0047
H167	18	14	23	30	19	11	17	13	12	19	10	15	24	11	14	40	17	16	15--18	30	14	12	25	35--39	11	1	0,0047
H168	17	12	21	28	20	10	16	14	11	19	10	14	22	10	11	40	18	16	14--15	27	13	12	27	35--38	11	1	0,0047
H169	18	13	23	30	19	11	17	13	12	20	10	14	23	11	15	40	19	14	14--17	29	15	12	24	36--38	11	1	0,0047
H170	15	13	21	29	21	10	15	15	11	22	10	15	21	10	11	39	17	16	13--15	27	14	11	21	38,4--38,4	10	1	0,0047
H171	16	13	23	29	20	10	16	14	12	19	11	17	24	12	13	38	16	15	11--14	29	14	13	23	33--36	12	1	0,0047
H172	18	14	23	30	23	11	17	14	12	20	10	16	25	12	13	39	20	15	11--14	29	12	12	22	35--36	12	1	0,0047
H173	18	13	26	29	16	10	15	13	12	19	10	17	23	12	14	36	19	14	15--16	29	13	13	24	35,4--35,4	11	1	0,0047
H174	19	12	21	29	23	10	17	15	13	21	10	15	23	10	11	37	15	16	15--15	29	14	11	20	36--37	10	1	0,0047
H175	18	14	22	30	23	10	16	14	12	19	10	15	23	9	11	38	17	15	13--16	31	12	11	23	38--39	11	1	0,0047
H176	16	12	20	28	22	10	15	15	12	18	10	15	23	10	14	37	16	14	12--13	29	13	12	25	36,4--36,4	11	1	0,0047
H177	18	13	23	29	22	10	16	14	12	20	10	15	24	12	13	38	17	15	11--14	31	13	12	22	35--36	12	1	0,0047
H178	20	13	22	29	24	11	16	15	10	21	10	15	23	10	14	40	17	15	12--15	30	14	13	23	37,4--37,4	12	1	0,0047
H179	17	14	21	29	18	11	16	13	12	20	9	16	24	10	11	41	23	14	14--14	32	13	10	25	35--36	12	1	0,0047
H180	18	13	23	29	21	10	18	16	12	19	10	16	24	12	13	39	19	15	11--14	31	13	12	22	34--36	14	1	0,0047
H181	18	13	24	30	22	11	17	14	12	18	11	15	24	12	13	40	17	15	12--14	31	13	11	19	35--36	12	1	0,0047
H182	20	14	21	30	18	12	20	13	12	20	9	18	24	10	11	43	22	14	13--14	33	13	10	26	36--38	11	1	0,0047
H183	20	12	23	28	20	11	20	16	12	19	11	16	24	12	13	38	18	15	11--15	29	13	12	22	35--36	12	1	0,0047
H184	15	12	23	28	20	10	17	15	11	21	10	15	21	10	11	39	18	16	11--13	29	14	11	24	38--38	12	1	0,0047
H185	19	13	23	32	20	11	17	13	12	20	10	14	24	11	15	37	18	14	14--17	28	12	12	23	36,4--36,4	11	1	0,0047
H186	18	13	23	30	22	11	17	14	11	19	10	16	24	12	13	39	18	15	12--14	29	13	12	22	36--36	13	1	0,0047
H187	17	13	23	29	23	10	17	14	12	18	11	17	24	12	13	39	17	14	11--14	29	14	12	22	37--37	12	1	0,0047
H188	19	13	22	28	23	11	17	17	13	20	10	14	23	10	11	36	18	15	13--13	30	13	12	22	35--38	12	1	0,0047
H189	18	12	21	28	22	12	16	16	13	21	11	15	22	11	11	37	17	16	14--15	27	14	11	23	36--39	9	1	0,0047

H190	17	13	23	29	22	11	17	14	13	19	11	15	24	11	13	39	16	15	11--14	29	13	12	26	35--36	12	1	0,0047
H191	18	14	24	31	24	11	17	14	11	18	11	15	24	12	13	39	17	14	11--14	29	13	12	22	35--37	12	1	0,0047
H192	19	15	22	33	18	10	17	14	12	19	10	18	24	11	14	34	16	14	16--16	29	13	13	25	34--38	11	1	0,0047
H193	17	14	23	30	20	10	16	13	11	18	10	15	25	11	14	39	17	14	13--15	30	12	12	25	35--39	12	1	0,0047
H194	17	12	21	30	19	11	17	15	11	21	10	18	22	11	11	39	18	16	12--16	29	14	12	22	38--39	9	1	0,0047
H195	17	14	23	31	21	10	17	14	11	18	11	15	24	12	13	39	16	14	11--15	29	13	11	22	35--37	12	1	0,0047
H196	15	12	21	30	19	10	18	15	11	21	10	15	22	11	11	39	21	14	15--17	28	14	11	24	37,4--37,4	11	1	0,0047
H197	19	14	23	27	19	10	18	14	13	15	10	14	24	11	15	39	20	14	14--16	33	12	13	23	38--39	11	1	0,0047
H198	18	13	22	31	21	10	14	16	11	19	11	15	24	10	11	40	18	15	15--15	32	13	11	32	38--39	13	1	0,0047
H199	18	13	22	29	20	10	14	13	11	20	11	15	25	11	13	38	18	14	14--18	30	15	13	21	32--36	11	1	0,0047
H200	14	13	21	30	22	10	14	15	11	19	11	16	22	9	11	37	17	17	14--16	30	13	12	21	37--38	14	1	0,0047
H201	15	14	22	29	22	11	16	14	11	20	10	15	23	9	13	36	17	14	13--14	36	13	11	21	38--38	12	1	0,0047
H202	18	13	22	31	21	10	16	16	11	19	11	15	24	10	11	40	18	15	15--15	32	13	11	31	38--39	13	1	0,0047
H203	19	14	23	30	25	10	18	15	11	18	10	16	24	12	13	38	17	14	11--14	29	13	13	23	35--36	12	1	0,0047
H204	16	13	23	30	21	10	17	11	11	20	10	15	24	11	14	39	18	14	14--16	29	13	12	25	39,4--39,4	12	1	0,0047
H205	18	13	23	29	21	11	18	14	12	20	11	18	24	12	13	39	18	15	11--14	29	13	12	22	35--36	12	1	0,0047

Fuente: Base de datos del laboratorio de Genética del Instituto de Medicina Legal.

Anexo 3. Tabla3. Frecuencias alélicas del marcador
DYS385 a/b.

DYS385 a/b			
Alelos	Contados	Frecuencia	Porcentaje
10--14	3	0,0139	1,39%
11--11	2	0,0093	0,93%
11--12	1	0,0046	0,46%
11--13	7	0,0325	3,25%
11--14	43	0,2	20,00%
11--15	8	0,0372	3,72%
11--16	2	0,0093	0,93%
12--12	1	0,0046	0,46%
12--13	3	0,0139	1,39%
12--14	3	0,0139	1,39%
12--15	1	0,0046	0,46%
12--16	2	0,0093	0,93%
12--17	1	0,0046	0,46%
13--13	3	0,0139	1,39%
13--14	6	0,0279	2,79%
13--15	4	0,0186	1,86%
13--16	4	0,0186	1,86%
13--17	4	0,0186	1,86%
13--18	8	0,0372	3,72%
13--19	4	0,0186	1,86%
14--14	6	0,0279	2,79%
14--15	9	0,0418	4,18%
14--16	8	0,0372	3,72%
14--17	8	0,0372	3,72%
14--18	8	0,0372	3,72%
14--19	1	0,0046	0,46%
15--15	5	0,0232	2,32%
15--16	8	0,0372	3,72%
15--17	13	0,0604	6,04%
15--18	4	0,0186	1,86%
15--19	3	0,0139	1,39%
15,2--17	2	0,0093	0,93%
16--16	5	0,0232	2,32%
16--17	13	0,0604	6,04%
16--18	1	0,0046	0,46%
16--19	1	0,0046	0,46%
17--17	2	0,0093	0,93%
17--18	2	0,0093	0,93%
17--19	1	0,0046	0,46%
18--18	3	0,0139	1,39%
18--19	1	0,0046	0,46%
18--21	1	0,0046	0,46%
PD		0,935	93,50%
PC		0,065	6,50%
PIC		0,84	84,00%

Fuente: Programa estadístico Power Stats.

Anexo 4. Tabla4. Frecuencias alélicas del marcador
DYF387S1 a/b.

DYF387S1 a/b			
Alelos	Contados	Frecuencias	Porcentaje
32--36	1	0,0046	0,46%
32--37	2	0,0093	0,93%
33--36	1	0,0046	0,46%
33--37	1	0,0046	0,46%
33--39	1	0,0046	0,46%
34--34	1	0,0046	0,46%
34--35	2	0,0093	0,93%
34--36	2	0,0093	0,93%
34--38	2	0,0093	0,93%
34--40	3	0,0139	1,39%
35--35	5	0,0232	2,32%
35--36	40	0,186	18,60%
35--37	11	0,0511	5,11%
35--38	6	0,0279	2,79%
35--39	18	0,0837	8,37%
35--40	5	0,0232	2,32%
35--41	1	0,0046	0,46%
35--42	1	0,0046	0,46%
35,4--35,4	1	0,0046	0,46%
36--36	9	0,0418	4,18%
36--37	7	0,0325	3,25%
36--38	14	0,0651	6,51%
36--39	9	0,0418	4,18%
36--40	5	0,0232	2,32%
36--41	1	0,0046	0,46%
36--42	4	0,0186	1,86%
36,4--36,4	2	0,0093	0,93%
37--37	7	0,0325	3,25%
37--38	10	0,0465	4,65%
37--39	6	0,0279	2,79%
37--40	3	0,0139	1,39%
37--45	1	0,0046	0,46%
37,4--37,4	2	0,0093	0,93%
38--38	7	0,0325	3,25%
38--39	7	0,0325	3,25%
38--40	3	0,0139	1,39%
38--43	1	0,0046	0,46%
38,4--38,4	1	0,0046	0,46%
38--38	1	0,0046	0,46%
39--39	4	0,0186	1,86%
39--40	2	0,0093	0,93%
39--42	1	0,0046	0,46%
39,4--39,4	1	0,0046	0,46%
40--40	3	0,0139	1,39%
PD		0,936	93,60%
PC		0,064	6,40%
PIC		0,82	82,00%

Fuente: Programa estadístico Power Stats.

Anexo 5

Tabla 5. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS19.

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS19			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 11	0,005	0,0067	0,0076
Alelo 12	0,009	0,0067	
Alelo 13	0,293	0,24	0,3307
Alelo 14	0,419	0,4667	0,4538
Alelo 15	0,191	0,1733	0,1384
Alelo 16	0,065	0,0667	0,0384
Alelo 17	0,019	0,04	0,0307

Tabla 6. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador el marcador DYS389I.

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS389I			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 11		0,0067	
Alelo 12	0,186	0,1333	0,1384
Alelo 13	0,577	0,6467	0,6076
Alelo 14	0,223	0,2133	0,2461
Alelo 15	0,014		0,0076

Tabla 7. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS389II.

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS389II			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 23	0,005		
Alelo 24	0,009		
Alelo 26			0,0076
Alelo 27	0,014	0,02	0,0076
Alelo 28	0,13	0,08	0,1384
Alelo 29	0,279	0,4667	0,3615
Alelo 30	0,321	0,32	0,3153
Alelo 31	0,186	0,0867	0,123
Alelo 32	0,037	0,0267	0,0461
Alelo 33	0,014		
Alelo 34	0,005		
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas			
Alelo 23			
Alelo 24			
Alelo 33			
Alelo 34			

Tabla 8. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS390

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS390			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 20			0,0076
Alelo 21	0,079	0,0867	0,0076
Alelo 22	0,084	0,0867	0,0461
Alelo 23	0,233	0,2267	0,223
Alelo 24	0,488	0,4933	0,6153
Alelo 25	0,116	0,0933	0,0846
Alelo 26		0,0133	0,0153

Tabla 9. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS391

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS391			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 6	0,009		
Alelo 8	0,005		
Alelo 9	0,037	0,02	0,0384
Alelo 10	0,614	0,5867	0,5692
Alelo 11	0,316	0,38	0,3538
Alelo 12	0,005	0,0133	0,0307
Alelo 13	0,005		
Alelo 15	0,005		
Alelo 19	0,005		
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas			
Alelo 6			
Alelo 8			
Alelo 13			
Alelo 15			
Alelo 19			

Tabla 10. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS392

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS392			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 9		0,0067	
Alelo 11	0,335	0,2333	0,2076
Alelo 12	0,023	0,0267	0,0461
Alelo 13	0,326	0,4333	0,4384
Alelo 14	0,191	0,2067	0,1923
Alelo 15	0,107	0,0733	0,0615
Alelo 16	0,014	0,02	0,0538
Alelo 17	0,005		
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas			
Alelo 17			

Tabla 11. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS393

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS393			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 8			0,0076
Alelo 11			0,023
Alelo 12	0,186	0,12	0,1153
Alelo 13	0,656	0,7667	0,7384
Alelo 14	0,135	0,1067	0,1153
Alelo 15	0,023	0,0067	

Tabla 12. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS437

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS437			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 12		0,0067	
Alelo 13	0,005		0,023
Alelo 14	0,558	0,5267	0,5384
Alelo 15	0,335	0,3867	0,3923
Alelo 16	0,088	0,08	0,0461
Alelo 17	0,014		
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas			
Alelo 17			

Tabla 13. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS438

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS438			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 7	0,005		
Alelo 8	0,009		
Alelo 9	0,06	0,02	
Alelo 10	0,223	0,18	
Alelo 11	0,358	0,3333	
Alelo 12	0,33	0,3933	
Alelo 13	0,009	0,0733	
Alelo 15	0,005		
Alelo 17			0,0243
Alelo 18			0,1219
Alelo 19			0,439
Alelo 20			0,2926
Alelo 21			0,0975
Alelo 22			0,0243
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas			
Alelo 7			
Alelo 8			
Alelo 15			

Tabla 14. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS439

Comparación poblacional de frecuencias alélicas			
Marcador DYS439			
	Nicaragua	El Salvador	Zacatecas, México
N	215	150	130
Alelo 10	0,023	0,06	0,0615
Alelo 11	0,312	0,3267	0,3923
Alelo 12	0,437	0,4667	0,4153
Alelo 13	0,219	0,12	0,1307
Alelo 14	0,009	0,02	
Alelo 15		0,0067	

Tabla 15. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS385 a/b

Comparación poblacional de frecuencias alélicas		
Marcador DYS385 a/b		
	Nicaragua	El Salvador
N	215	150
Alelos 10—14	0,0139	
Alelos 11—11	0,0093	
Alelos 11—12	0,0046	0,0067
Alelos 11—13	0,0325	0,0267
Alelos 11—14	0,2	0,3133
Alelos 11—15	0,0372	0,0867
Alelos 11—16	0,0093	
Alelos 12—12	0,0046	0,02
Alelos 12—13	0,0139	0,0067
Alelos 12—14	0,0139	0,0267
Alelos 12—15	0,0046	0,0333
Alelos 12—16	0,0093	
Alelos 12—17	0,0046	0,0067
Alelos 12—18		0,0133
Alelos 13—13	0,0139	
Alelos 13—14	0,0279	0,0267
Alelos 13--15	0,0186	0,0133
Alelos 13--16	0,0186	
Alelos 13--17	0,0186	0,0133
Alelos 13--18	0,0372	0,0133
Alelos 13--19	0,0186	0,0067
Alelos 14--14	0,0279	0,0267
Alelos 14--15	0,0418	0,0267
Alelos 14--16	0,0372	0,0333
Alelos 14--17	0,0372	0,04
Alelos 14--18	0,0372	0,02
Alelos 14--19	0,0046	0,02
Alelos 14--20		0,0067
Alelos 15--15	0,0232	0,02
Alelos 15--16	0,0372	0,0667
Alelos 15--17	0,0604	0,0267
Alelos 15--18	0,0186	0,0133
Alelos 15—19	0,0139	0,0067
Alelos 15,2--17	0,0093	

Alelos 16--16	0,0232	
Alelos 16--17	0,0604	0,0133
Alelos 16--18	0,0046	0,0267
Alelos 16--19	0,0046	0,0067
Alelos 17--17	0,0093	0,02
Alelos 17--18	0,0093	0,0067
Alelos 17--19	0,0046	0,0067
Alelos 18--18	0,0139	
Alelos 18--19	0,0046	
Alelos 18--21	0,0046	
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas		
Alelos 10-14		
Alelos 11-11		
Alelos 11-16		
Alelos 12-16		
Alelos 13-13		
Alelos 13-16		
Alelos 15,2-17		
Alelos 16-16		
Alelos 18-18		
Alelos 18-19		
Alelos 18-21		

Tabla 16. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS456

Comparación poblacional de frecuencias alélicas		
Marcador DYS456		
	Nicaragua	Zacatecas, México
N	215	130
Alelo 12	0,005	
Alelo 13	0,009	0,02439
Alelo 14	0,158	0,07317
Alelo 15	0,484	0,439
Alelo 16	0,209	0,3414
Alelo 17	0,112	0,1219
Alelo 18	0,023	
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas		
Alelo 12		
Alelo 18		

Tabla 17. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS458

Comparación poblacional de frecuencias alélicas		
Marcador DYS458		
	Nicaragua	Zacatecas, México
N	215	130
Alelo 13	0,005	
Alelo 14	0,023	0,0243
Alelo 15	0,107	0,0975
Alelo 16	0,255	0,2682
Alelo 16,2	0,005	
Alelo 17	0,363	0,3685
Alelo 17,2	0,033	
Alelo 18	0,144	0,1951
Alelo 18,2	0,009	
Alelo 19	0,042	0,0487
Alelo 20	0,014	
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas		
	Alelo 13	
	Alelo 16,2	
	Alelo 17,2	
	Alelo 18,2	
	Alelo 20	

Tabla 18. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS635

Comparación poblacional de frecuencias alélicas		
Marcador DYS635		
	Nicaragua	Zacatecas, México
N	215	130
Alelo 18	0,005	
Alelo 19	0,009	
Alelo 20	0,037	0,0487
Alelo 21	0,209	0,0307
Alelo 22	0,191	0,317
Alelo 23	0,479	0,3902
Alelo 24	0,047	0,1463
Alelo 25	0,019	
Alelo 26	0,005	

Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas		
Alelo 18		
Alelo 19		
Alelo 25		
Alelo 26		

Tabla 19. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador YGATAH4

Comparación poblacional de frecuencias alélicas		
Marcador YGATAH4		
	Nicaragua	Zacatecas, México
N	215	130
Alelo 9	0,009	
Alelo 10	0,009	0,0243
Alelo 11	0,395	0,317
Alelo 12	0,488	0,1923
Alelo 13	0,079	0,0153
Alelo 14	0,014	
Alelo 22	0,005	
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas		
Alelo 9		
Alelo 14		
Alelo 22		

Tabla 20. Comparación poblacional de frecuencias alélicas para el marcador DYS448

Comparación poblacional de frecuencias alélicas		
Marcador DYS448		
	Nicaragua	Zacatecas, México
N	215	130
Alelo 8		0,023
Alelo 9		0,0538
Alelo 10	0,005	0,2076
Alelo 11		0,2692
Alelo 12		0,423
Alelo 13		0,023
Alelo 15	0,009	

Alelo 18	0,116	
Alelo 19	0,372	
Alelo 20	0,298	
Alelo 21	0,172	
Alelo 22	0,033	
Alelos no reportados en estudios de poblaciones cercanas		
Alelo 15		
Alelo 18		
Alelo 19		
Alelo 20		
Alelo 21		
Alelo 22		

Anexo 6. Carta de solicitud de aprobación de tema de monografía



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

Msc. Ligia Lorena Ortega Valdés.

Directora Departamento de Bioanálisis Clínico

Por medio de la presente hacemos solicitud formal para la aprobación de nuestro tema monográfico que lleva por título **“FRECUENCIA DE ALELOS EN HAPLOTIPOS DE CROMOSOMA Y UTILIZANDO EL KIT YFILER PLUS EN LA POBLACIÓN NICARAGÜENSE, EN EL PERÍODO COMPRENDIDO DE ENERO A DICIEMBRE 2019”** para optar a la licenciatura en Bioanálisis clínico del POLISAL UNAN-MANAGUA.

Sin más que agregar nos despedimos cordialmente, deseándole éxitos en todas sus funciones.

Att:

Br. Eloísa Abigail López Matus

Carnet: 15072182

Br. Bryan Josué Rodríguez Gutiérrez

Carnet: 16071346

Tutor: MsC. Juan Carlos Loáisiga Vargas.

Asesor metodológico: MsC. Martha Xiomara Guerrero.

Anexo 7.



“Frecuencia de alelos en Haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler Plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019”

Consentimiento informado

El cromosoma Y es uno de los cromosomas sexuales y está presente únicamente en individuos del sexo masculino, al hablar de haplotipos de cromosoma Y se hace referencia al conjunto de alelos que fueron heredados exclusivamente vía paterna hacia hijos varones. Así, pues cada hombre recibe un haplotipo de cromosoma Y idéntico al de su padre.

Objetivos

- 1) Identificar el haplotipo de cromosoma Y de individuos del sexo masculino que asistieron al Instituto de Medicina Legal.
- 2) Determinar los alelos de los 27 marcadores Y-STR que están presentes en la población en estudio.
- 3) Calcular la frecuencia de los alelos predominantes en dicha población
- 4) Aplicar parámetros estadísticos de interés en genética forense.

Solicitamos autorización para ingresar al Laboratorio de Genética del Instituto de Medicina Legal y de esta manera acceder a los datos requeridos para este estudio.

La presente investigación tiene fines meramente académicos, científicos e investigativos; en razón de ello, y bajo las normas éticas establecidas, expresamos que solo se tomarán en cuenta los datos que resultaron luego del análisis con el kit Yfiler plus, no así datos personales tales como: nombres, dirección domiciliar, edad, etc.

Considerando lo anterior:

Yo _____, entiendo a cabalidad los fines de esta investigación, la cual se realizará bajo principio de confidencialidad, acepto y concedo la autorización para el ingreso al Laboratorio de Genética, y para que la información obtenida del estudio en curso; sea analizada, discutida y utilizada para su posterior publicación.

Firma

Investigadores:

Eloísa Abigail López Matus

Bryan Josué Rodríguez Gutiérrez

Para más detalles de la investigación, contactarse al número móvil

(+505)7892-3661 o (+505)8351-0188

e-mail eloisamatus1999@gmail.com o rodriguezbyranjosue97@gmail.com

Anexo 8. Solicitud para ingresar a la base de datos del Laboratorio de Genética

Managua, 09 de noviembre de 2020

Ligia Carolina Campos Molina

Jefe de Laboratorio de Genética del Instituto de Medicina Legal

Estimada MSc. Campos, somos estudiantes de la carrera de Bioanálisis Clínico de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-MANAGUA actualmente cursamos el quinto año de dicha carrera universitaria; y es a través de esta misiva que solicitamos autorización para acceder a la base de datos del laboratorio de Genética, con el fin de recopilar los datos pertinentes para el desarrollo de nuestra investigación, la cual lleva por título “Frecuencia de alelos en Haplotipos de cromosoma Y, utilizando el kit Yfiler Plus en la población Nicaragüense, en el período comprendido de enero a diciembre 2019”.

Agradeciendo de antemano su ayuda, nos despedimos esperando su pronta respuesta.

Atentamente:

Eloísa Abigail López Matus

Bryan Josué Rodríguez Gutiérrez

Estudiantes UNAN-Managua

Anexo 9. Escalera alélica de los 25 marcadores Y-STR

Locus designation	Alleles included in Allelic Ladder
DYS576	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25
DYS389I	9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17
DYS635	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30
DYS389II	24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35
DYS627	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
DYS460	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14
DYS458	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
DYS19	9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
YGATAH4	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
DYS448	14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
DYS391	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
DYS456	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
DYS390	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29
DYS438	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
DYS392	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20
DYS518	32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49
DYS570	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26
DYS437	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18
DYS385 a/b	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28
DYS449	22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40
DYS393	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18
DYS439	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17
DYS481	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32
DYF387S1	30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44
DYS533	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17

Anexo 10. Electroferograma de una de las 215 muestras analizadas

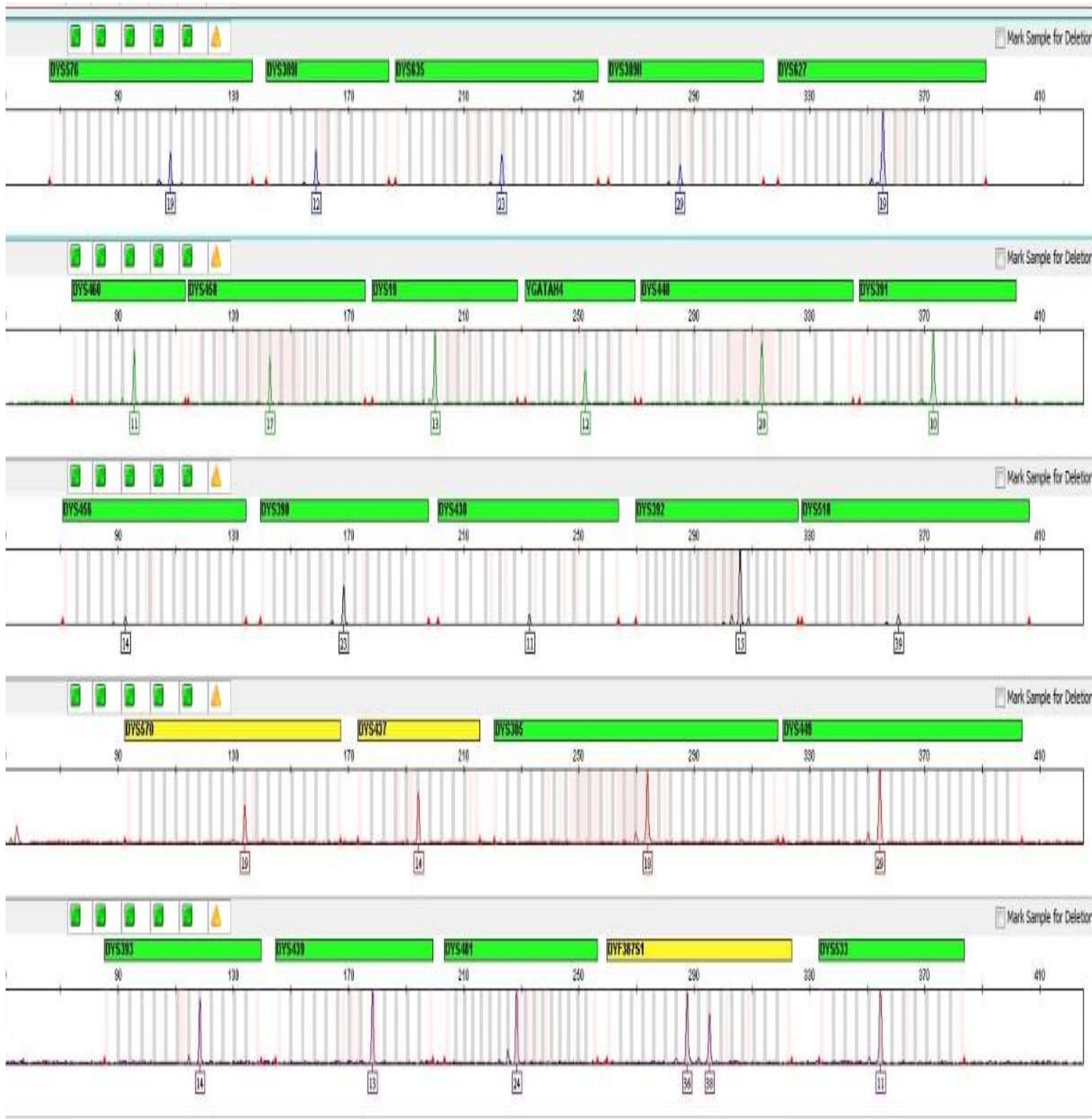
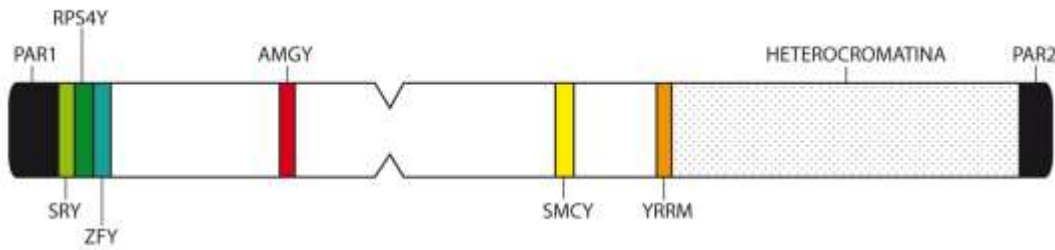


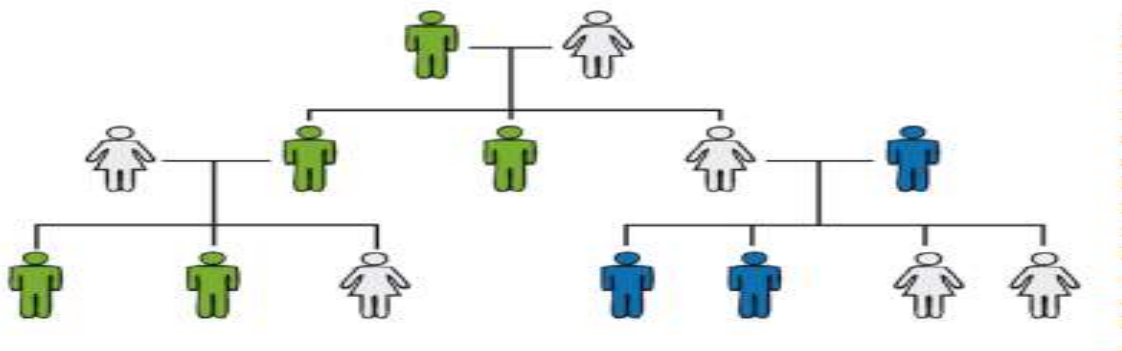
Figura 1. Estructura y distribución del genoma en el Cromosoma Y



Las regiones PAR1 y PAR2 son regiones pseudoautosómicas, en las cuales, a pesar de su distinta naturaleza los cromosomas X e Y pueden aparearse durante la meiosis e intercambiar información. La región específica del CrY no recombina con ninguno de los cromosomas, y presenta algunos genes funcionales de gran importancia para el desarrollo sexual del hombre. Entre ellos el SMCY, que codifica el antígeno menor de histocompatibilidad. El gen ZFY que codifica una proteína cuya función no es conocida por el momento. El gen SRY ha sido aislado en el brazo corto del CrY, presenta un solo exón y carece de homólogo en X.

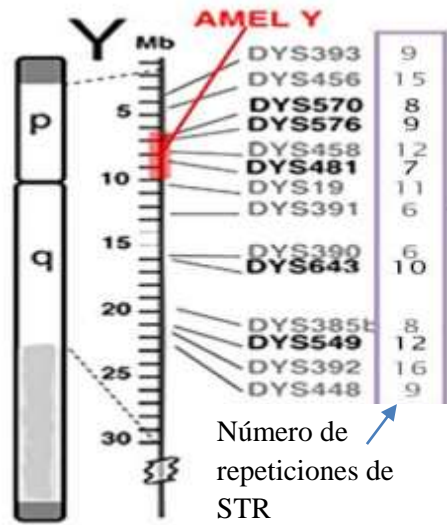
La familia de genes YRRM intervienen en la regulación de la espermatogénesis y también carece de homólogos. El RPS4Y, es un gen que codifica la proteína ribosómica S4. El gen AMGY codifica la amelogenina, también tiene un homólogo en X, responsable de la formación normal del esmalte dentario.

Figura 2. Herencia del Cromosoma Y



Por su haploidia el CrY posee limitada recombinación, por lo cual sus locis se transmiten inalteradamente por línea paterna de generación en generación (en ausencia de mutación).

Figura 3. Algunos de los microsatélites STR del CrY



Los números de repeticiones de cada microsatélite STR de cromosoma Y componen el haplotipo del varón.



Grupo de investigadores y asesor técnico.