



# **UNIVERSIDAD ESPECIALIZADA DE LAS AMÉRICAS**

**DECANATO DE POSTGRADO**

**Trabajo de Grado para obtener el grado de Doctorado en Ciencias de  
la Salud y Comportamiento Humano**

## **TESIS**

### **Análisis de las Mutaciones en las Regiones Cortas de Repetición (STR) del ADN en la Población Panameña, su Importancia en Aspectos Criminalísticos, Sociodemográficos y Relación de Parentesco**

Presentado por:

Edwards Coward, César 8-279-225

Asesora:

Doctora, Analinnette Lebrija

Panamá, 2021

## **DEDICATORIA**

A mis padres, mis hermanos y a mi familia

**César Edwards Coward**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Doctora Analinnette Lebrija, Decana y Docente Investigadora del Decanato de Investigación de la Universidad Especializada de la Américas (UDELAS), por su colaboración, aportes, paciencia, e invaluable experiencia y Asesoría directa, oportuna y atinada, lo que permitió la culminación de este trabajo de investigación y del Programa Académico Doctoral.

A mis compañeros de labores de los Laboratorios de Análisis Biomolecular de Panamá/Veraguas del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forense de Panamá, quienes producto de su labor cotidiana, esmerada y profesional, aportaron los datos genéticos, información pertinente, autorizaciones y sugerencias oportunas que hicieron posible esta investigación Doctoral.

Finalmente, debo agradecer al Programa de Fondo Concursable del Decanato de Investigación de la Universidad Especializada de la Américas (UDELAS), por el financiamiento ofrecido, asesoría y aportes para la culminación de esta Investigación Doctoral e igualmente al Programa de Becas para Docentes de la UDELAS, por haber financiado gran parte de mis estudios Doctorales.

**César Edwards Coward**

## RESUMEN

El cálculo o determinación de la tasa de mutación poblacional de los polimorfismos de ADN-STR (repeticiones cortas de repetición) de cada país en particular, son de importancia fundamental para la valoración estadística en los casos de investigación de la consanguinidad y casos de investigación criminal. Esta investigación tiene como objetivo analizar las variables sociodemográficas como la edad, sexo de los padres, origen parental y origen geográfico del comportamiento de las mutaciones de los biomarcadores moleculares (STR) en la población panameña. Es una investigación de Enfoque cuantitativa, no experimental, transversal, observacional, descriptiva, analítica y retrospectiva. Se analizaron 1696 casos de paternidad biológicamente confirmadas, 5088 individuos y 101760 meiosis, se identificaron 41 mutaciones STR en la población panameña de las cuales el 90,24% son de tipo deslizamiento de un solo paso, 4,87 % tiene un mecanismo mutacional nulo o silente y en 4,87% no fue posible determinar el mecanismo mutacional. La tasa de mutación de la población panameña oscila entre  $4 \times 10^{-3}$  a  $3 \times 10^{-2}$ . Las tasas de mutación más alta se encontraron en los locus FGA y D18S51, mientras que los locus D16S539, D2S1338, D6S1043, D3S1358, TPOX, D13S317, D13S317, D12S391, PENTA D, D8S1179, fueron los locus con tasa de mutación más bajas, en tanto en los locus THO1, D1S1656, D7S820, D19S433, no se observaron mutaciones en nuestra población, la tasa de mutación por meiosis paterna fue cuatro veces mayor que la tasa de origen materno, las provincias del país no presentaron diferencias significativas, en cuanto a las tasa de mutación estudiada.

**Palabras claves:** ADN, Población, STR, Tasa de mutación, Transferencia meióticas.

## ABSTRACT

The calculation or determination of the population mutation rate of the DNA-STR polymorphisms (short repetitions of repetition) are of fundamental importance for the statistical evaluation in cases of investigation of consanguinity and cases of criminal investigation. This research aims to analyze variables such as sex, age, parental origin, and geographic origin, on the mutational behavior of molecular biomarkers (STR) in the Panamanian population. It is research with a quantitative, non-experimental, transversal, observational, descriptive, analytical, and retrospective approach. 1696 biologically confirmed paternity cases were analyzed, 5088 individuals and 101,760 meioses, 41 STR mutations were identified in the Panamanian population, of which 90.24% are of the one-step slip type, 4.87% have a null mutational mechanism or silent and in 4.87% it was not possible to determine the mutational mechanism. The mutation rate of the Panamanian population ranges from  $4 \times 10^{-3}$  to  $3 \times 10^{-2}$ . The highest mutation rates were found in the FGA and D18S51 loci, while the D16S539, D2S1338, D6S1043, D3S1358, TPOX, D13S317, D12S391, PENTA D, D8S1179 loci were the loci with the lowest mutation rate. while in the TH01, D1S1656, D7S820, D19S433 loci, no mutations were observed in our population, the rate of mutation due to paternal meiosis was four times higher than the rate of maternal origin, the provinces of the country did not show significant differences, in terms of at the mutation rate studied.

**Keywords:** DNA, Meiotic transfer, Mutation rate, Population, STR.

## CONTENIDO GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	7
<b>CAPITULO I: ASPECTOS GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	10
1.1 Planteamiento del problema de Investigación .....	10
1.1.1 El problema de investigación .....	20
1.2 Justificación .....	20
1.3 Hipótesis .....	22
1.4 Objetivos .....	22
1.4.1 Objetivo General.....	22
1.4.2 Objetivos Específicos .....	23
<b>CAPITULO II: MARCO TEÓRICO</b> .....	25
2.1 El Ácido Desoxirribonucleico (ADN+) y las Regiones Cortas de Repetición (STR) .....	25
2.2 Las mutaciones en los microsatélites (str) .....	36
<b>CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO</b> .....	45
3.1 Diseño de investigación y tipo de estudio .....	45
3.2 Población o Universo .....	46
3.3 Variables de la Investigación .....	47
3.4 Instrumentos, técnicas de recolección de datos y/o materiales .....	48
3.5 Procedimiento .....	51
<b>CAPITULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	58
CONCLUSIONES .....	79
RECOMENDACIONES Y LIMITACIONES .....	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	85
ANEXO .....	97
INDICE DE CUADROS.....	99
INDICE DE TABLAS.....	100
INDICE DE FIGURAS.....	101

## INTRODUCCIÓN

Las regiones cortas de repetición (STR), son dentro de los marcadores genéticos, los más utilizados en pruebas de determinación de la relación filial (paternidad y/o maternidad) y en los casos de casuística criminal a efecto de vincular o desvincular a un individuo dentro de una investigación penal.

En los casos de relación filial, usualmente se analizan entre 16 a 20 STR, los cuales pueden arrojar resultados estadísticamente concluyentes; sin embargo, en algunas ocasiones se encuentran dentro de un panel de 20 marcadores genéticos dos a tres inconsistencias que requieren confirmar si se trata de una exclusión real o es producto de una mutación.

Si en un caso de Paternidad/Maternidad o caso de casuística criminal, se observa una inconsistencia debido a una mutación, esta debe estudiarse y al momento de estimar el índice de Paternidad (IP), se debe contar con la Tasa de Mutación del marcador mutante, y es aquí donde radica la importancia de contar con este valor que es propio de cada población o país.

El valor numérico de la Tasa de mutación población permite (en los casos de no paternidad y en los casos de investigación criminal, debido a mutaciones en los STR) realizar la corrección del cálculo de probabilidad (W) con los valores mutacionales propios de nuestro país, lo que sería más cónsono; pues se evitaría la utilización de Tasa de Mutación de poblaciones de países referente.

En genética poblacional, la tasa de mutación también es valorada como una fuerza evolutiva de la especie y la única manera de determinar la misma, es por medio del estudio de la comparación genética de los padres y sus descendencias.

Capítulo I; se desarrollan los aspectos que enmarcan la problemática del estudio, se establecen los objetivos generales y específicos, la justificación e importancia de esta investigación sus hipótesis e información detallada sobre los aspectos relacionados con el ADN, la Tasa de Mutación y los Marcadores genéticos.

Capítulo II; se presenta el marco teórico donde se fundamenta el tema de investigación, presentando y explicando detalladamente su enfoque constructivo, el marco conceptual y sustento teórico para el análisis y comprensión del tema.

Capítulo III; abarca el método de la investigación, población, muestra de estudio, variables incluyendo su definición conceptual y operacional, y finalmente el procedimiento.

Capítulo IV; se presentan los datos y analizan los resultados obtenidos, para dar respuesta a los objetivos planteados, la pregunta de investigación y la hipótesis; relacionando y analizando los datos con el fundamento teórico del estudio.

Finalmente se presentan las conclusiones científicas, las limitaciones y recomendaciones.



# CAPÍTULO I

## **CAPITULO I: ASPECTOS GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN**

### 1.1 Planteamiento del problema de Investigación

A raíz de la Teoría Celular, a la célula se le considera la unidad básica de la vida, toda vez que, por medio de ella, se produce en los seres vivos los constituyentes fundamentales y/o básicos, así como la energía requerida para la realización de los mecanismos, metabólicos, anabólicos, y de reproducción. El ser humano hace parte de los organismos multicelulares que en su momento se originaron de una única célula (Butler, 2015).

En el interior del núcleo de las células, existe una estructura llamada Acido Desoxirribonucleico (ADN), el cual es portador de la información necesaria y requerida en los procesos metabólicos y anabólicos que ocurren al interior de la célula. El ADN, presente en el núcleo de la Célula se le denomina ADN nuclear (Butler, 2015).

El Ácido Desoxirribonucleico es una molécula polinucleótido, constituido por un par de cadenas antiparalelas de elementos desoxirribonucleótidos enlazados por uniones covalentes, estructurados en forma complementaria, de doble hélice y enrollada, conteniendo la información biogenética e individualizante de cada individuo (Klug, 2006).

El Ácido Desoxirribosa (ADN), es un polinucleótido nuclear, constituido por estructuras básicas llamadas bases nucleicas estatuídas como nucleótidos. Cada uno de estos a su vez está formado por un grupo fosfato, un azúcar (desoxirribosa) y una base nitrogenada (adenina, guanina, citosina y timina); los nucleótidos se denominan con base a su constitución en: cinco primas'-mono-fosfato de desoxi-adenosina, cinco prima-mono-fosfato desoxi-guanosina, cinco prima -mono-

fosfato de desoxicitidina y cinco prima-mono-fosfato de timidina (Para et al., 2014).

El genoma (ADN), es el portador de las instrucciones e información genética para formar un organismo. Entre los propósitos fundamentales del genoma está el de replicarse a sí mismo, crear copias celulares idénticas y contener la información y directrices requeridas en la síntesis de proteínas (Luque, 2002).

La molécula de Ácido desoxirribonucleico (ADN), presenta una serie de características propias que la hacen ser dentro de las biomoléculas, una de las moléculas biológicas más fascinante a decir de (Robertis, 2004), la molécula de ADN tiene un altísimo grado de variabilidad o polimorfismo, es decir que existen diferentes formas de Acido desoxirribonucleico (ADN) en la población, lo que en aspectos criminalísticos, relaciones de parentesco, mapeo genético y genética poblacional, aumenta considerablemente la capacidad de discriminación y/o distinción entre los entre individuos.

La estabilidad de la molécula de Ácido desoxirribonucleico (ADN), permite analizar a la misma a pesar de su antigüedad y degradación; sus regiones de estudio, pueden ser amplificadas, mediante procedimientos en vitro como la llamada Reacción en Cadena de la Taq Polimerasa (PCR), además su alta sensibilidad analítica hace posible su estudio partiendo de una única célula nucleada (Orengo, 2013).

La molécula de Ácido desoxirribonucleico posee la cualidad de ser único, idéntico e irrepetibles, estable y de utilidad en la determinación de consanguinidad entre individuos (Para et al., 2014).

A manera de clasificación de las bases nitrogenadas que componen el Ácido Desoxirribonucleico (ADN), existen las bases nitrogenadas purinas (Adenina y

Guanina), y bases nitrogenadas pirimidinas (Citosina y Timina), que se diferencian entre sí por la estructura del anillo que los constituye (Para et al., 2014).

Debido a los cromosomas sexuales a los individuos del sexo masculino, se les designan como XY, mientras que, a las féminas, se les designan como XX (Orengo, 2013).

Los cromosomas que hacen parte de las células corporales, se les llama Cromosomas somáticos, son de naturaleza diploides, en cambio las células sexuales (óvulos y espermatozoides) se les llama cromosomas sexuales y son de naturaleza haploide (Vieira et al., 2017).

Un cigoto es el producto de la unión del ovulo y espermatozoides, esta unión ocurre durante la concepción; siendo entonces el cigoto de Constitución cromosómica diploide. Luego entonces, un cromosoma diploide es el producto de la unión del cromosoma haploide de cada uno de los progenitores (Para et al., 2014).

“Es usual la clasificación de los cromosomas STR en regiones Codificantes y regiones no codificantes. Las primeras hacen alusión a los genes en el cromosoma que codifican para la formación de proteínas y están constituidos por el cinco por ciento (5%); las segundas “no codifican” para la síntesis de proteína y constituyen el resto del genoma de ADN (Butler, 2015).

En la estructura del Acido Desoxirribonucleico ADN, se encuentran regiones conocidas como mini-satélites y Microsatélites que no son más que secuencias {cortas del Acido Desoxirribonucleico , generalmente de uno (1) a cuatro (4) pares de bases, repetidas en bloque o **“tamden”** a lo largo de la molécula del Ácido Desoxirribonucleico ; son regiones de una gran variabilidad entre individuos, lo que permite que se utilicen como biomarcadores moleculares en área como

medicina forense, criminalística, diagnóstico de enfermedades moleculares, pruebas de paternidad y/o consanguinidad (Luque, 2002).

Las regiones cortas de repetición del Acido Desoxirribonucleico (ADN), llamadas (STR), son marcadores genéticos moleculares del genoma humano, caracterizados por ser abundantes en el genoma humano, de forma sencilla y estable, heredables, alto polimorfismo y sobretodo su heterocigosidad elevada (Jin et al., 2016).

Las regiones cortas de repetición(STR) del Acido Desoxirribonucleico(ADN) , son secuencias que se denominan «regiones polimorfismo», estas son altamente discriminatorias, permitiendo así la capacidad de exclusión o inclusión de un individuo dentro de un proceso penal (Zauza, 2016).

Las regiones cortas de repetición (STR), son entre los marcadores genéticos moleculares los más comúnmente utilizados en las pruebas de paternidad, identidad humana, genéticas de poblaciones, el análisis de vínculos criminalísticas, y los trabajos de identificación forense (Buttler, 2015).

Las regiones cortas de repetición (STR), resultan ser tan eficientes en algunos casos que es posible obtener buenos resultados, incluso con ADN degradado o con un número bajo de copias(LCN) (Zauza, 2016).

Los loci de las regiones cortas de repetición (STR), más utilizados son D7S820, CSF1PO D5S818, entre otros (Buttler, 2015).

Los ADN-STR son también los biomarcadores genéticos ideales para la conformación de bases de perfiles nacionales, locales y regionales, con fines de investigación penal, investigación de migraciones, investigaciones civiles,

humanitarios y sociales, estudios poblacionales, ligamento de genes, y de aquellos con predisposición genética a enfermedades y (Luque, 2002).

Según, González (2003), los STR presentan herencia de tipo mendeliana simple, son de particular codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigóticos de los heterocigóticos), y altamente polimórficos. Su estudio o su genotipado, resulta relativamente fácil, semi-automatizable, automatizable, con resultados fáciles de analizar, repetitivos y fiables.

Las regiones cortas de repetición (STR), presentan locus con tendencia a sufrir mutaciones, debido a que, durante la replicación de ADN, la enzima Taq Polimerasas, puede deslizarse, siendo así que presentan una alta tasa de mutación, lo que resulta ser un factor fundamental en la disponibilidad de información para poder realizar estudios genéticos poblacionales y estudios de salud clínica. Las STR, también han sido ampliamente utilizados en la investigación de la variabilidad genética de poblaciones en una gran cantidad de especies, entre ellos nuestra especie (Zauza, 2016).

Las mutaciones cromosómicas, las mutaciones genómicas, además de la recombinación (independiente y por cross over); son la principal fuente de variabilidad genética natural; las mutaciones pueden ser provocada u ocurrir espontáneamente, estas últimas se les atribuye a errores en la replicación del ADN, al momento de la replicación de este, o agentes como sustancias radioactivas, radiaciones cósmicas. Las mutaciones provocadas, puede darse por o a través de la utilización de agentes muta génicos físicos y agentes muta génicos químicos (Cornejo, 2014).

Butler (2015), establece que la mutación es todo cambio estable o permanente que ocurre en la secuencia de bases de ADN de un individuo; son fenómenos que ocurren a nivel molecular, de un gen o cromosómico y las mismas pueden ser

observadas y estudiadas, mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y por medio de la utilización de un microscopio.

Las mutaciones de las regiones cortas de repetición (STR), son relativamente comunes en el genoma humano. En comparación con algunas otras mutaciones en el genoma, las mutaciones de las regiones cortas de repetición (STR), tienen mayor diversidad genética, su patrón de mutación es causado por alteraciones en su longitud y producido por la pérdida o ganancia de unidades de repetición (Checa, 2007).

La tasa y frecuencia de mutación que se da u ocurre en las regiones cortas de repetición (STR), es usualmente utilizada en la evaluación de la genética poblacional asociada a variables como las regiones geográficas, la edad, el sexo (Zhao et al., 2015).

Los laboratorios de genética forense generan una gran cantidad de información genética para el logro de la vinculación o exclusión de relación de un individuo en un hecho penal o civil. Esta gran cantidad de información genética permite detectar y hacer accesible el análisis de mutaciones y el estudio y valoración de dinámica muta-poblacional en particular de un país y correlacionarla con la dinámica mutacional de otros países (Paredes, 2014).

Paredes, 2014 señala igualmente que, para realizar inferencias poblacionales certeras y eficaces, es necesario, entre otras:

1. Hacerse de una gran cantidad de transferencias meióticas de fácil observancia.
2. Seleccionar uno o varios biomarcadores genéticos con una elevada tasa de mutación, situación que hará posible observar conductas mutacionales en la población.

Los estudios de mutación de las regiones cortas de repetición han sido de mucho interés a nivel internacional, ello en función de que dicha información proporciona interés genético poblacional en aspectos forenses, criminalísticos y antropológicos de una región o país en particular.

En la actualidad y a nivel mundial, han sido varios los científicos, laboratorios de investigación forense e instituto de investigación genéticos poblacionales privados y universitarios que han contribuido al estudio de las tasa y frecuencia de mutaciones de las regiones cortas de repetición STR.

Al menos se han realizado quince estudios relacionados con la Tasa y Frecuencia de Mutación y su relación con aspectos como la edad de los progenitores, la región geográfica de la cual hacen parte en su país, la edad de los progenitores al momento de la concepción, la longitud del microsatelite y los distintos mecanismos causantes de dichas mutaciones (Zhang, 2019; Zametica et al., 2018; Martinez et al., 2017; Zhang et al, 2019; Shao et al., 2016; Droździok, 2018; Vieira et al., 2017; Bekada et al., 2013; Gaviria et al., 2015).

Los estudios descriptivos de dinámica social de las relaciones de parentescos, han sido de interés también por laboratorios encargados de dilucidar las relaciones de parentesco en casos de criminalística casuística y casos civiles, por medio del estudio de las regiones cortas de repetición (STR) encontrándose entre ellos una estrecha relación y el hecho de que aproximadamente el 30 por ciento de los casos estudias arrojan resultados de no paternidad (Miranda, 2014; Acuña, 2008; González, 2015).

Las regiones cortas de repetición (STR), igualmente han sido estudiados para determinar los polimorfismos genéticos, la diversidad o variabilidad genéticas de las poblaciones humanas, variabilidad genética que han sido comparadas Inter país y entre países, observándose una sustancial variabilidad genética en unos



casos y en otros poco índice de variabilidad genética. (Hadi, 2004; Hernández,2014; Gaibar, 2011; Zauza, 2015).

En nuestro país son escasas las investigaciones realizadas en el ámbito genético poblacional humana, entre las investigaciones publicadas en donde se han estudiado la variabilidad polimórfica STR de la población Chibcha (Trejos, 2016).

Ramos en el año 2018, analizó 30 marcadores polimórficos INDEL de última generación en la población panameña, determinando la variabilidad genética de nuestro país (Cw & De, 2018). Otro estudio específico, utilizando regiones cortas de repetición fue realizada en 2010 por Núñez y Col, en donde aportan información sobre la frecuencia alélica de dichos marcadores en nuestra población (Núñez, 2009).

Achill,(2012) publica una investigación titulada Descifrando el Acervo Genético del panameño por medio de ADN Mitocondrial, haciendo aportes importantes sobre el origen europeo, indígena y negroides de nuestra población actual.

Uno de los primeros estudios genéticos poblacionales de la población panameña, utilizando biomarcadores moleculares, fue el realizado por Pérez en 2002, investigación referente al aporte genéticos de las etnias en la república de Panamá (Pérez, 2002).

Con respecto a los estudios de las mutaciones de los STRs de la población panameña, no se encontró publicación alguna, ni se tiene conocimiento de que algún laboratorio nacional o internacional de Genética este realizando investigaciones al respecto.

Panamá, debido a su posición geográfica, constante migraciones de todo el orbe, la presencia in situ de una gran población indígena, un pool genético poblacional

multiétnico, su compleja dinámica social, sus niveles delincuenciales productos del narcotráfico y consecuente conflicto entre bandas rivales (Situación de la Salud en Panamá, 2015), genera una alta demanda de identificación humana y pruebas de consanguinidad, donde las pruebas genéticas (ADN), son de vital importancia.

La Ley 80 de 1998, faculta al Laboratorio de Análisis Biomolecular del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Panamá (IMELCF) a la realización de pruebas de Identificación Humana por medio de la técnica de ADN, en los casos de criminalística forense y determinación de relaciones filiales.

Durante los años 2019-2020, la casuística forense, trajo consigo que el Laboratorio de Análisis Biomolecular, haya realizado cerca de 7339 pruebas científicas, con la finalidad de determinar el origen biológico de las muestras de fluidos recolectadas en la escena del delito y la identificación humana de las mismas, por medio de la técnica de ADN (Pachar, 2020).

Al momento de la implementación de la Ley 39 del 2003, referente a la responsabilidad paterna, según cifras del Registro Civil de la República de Panamá, existían en todo el país, cerca de 120,000 menores de edad, no reconocidos por sus padres (Sánchez, 2003).

En el Laboratorio de Análisis Biomolecular del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses (IMELCF), desde el año 2000 hasta la fecha, he participado directamente en las pruebas de ADN, las cuales pretenden determinar la relación filial y la identificación de personas, en los casos de casuística forense; es un hecho que en nuestro país se analizan aproximadamente 600 casos de consanguinidad por año, por medio del estudio del ADN (Avila, 2018).

**Según Paredes 2014...” esta situación es también una importante fuente de conocimiento sobre el genoma panameño, que debe ser administrado, clasificado y analizado, con el fin de aportar no solo al conocimiento fundamental de estas secuencias de ADN y su dinámica de cambio molecular sino, además, para resolver problemas concretos y cotidianos de la práctica pericial, que permitan perfeccionar el ejercicio forense en bien de las víctimas y la sociedad”. p.30).**

Los eventos mutacionales, que requieren una valoración a efecto de proporcionar fácilmente y alcanzar los valores estadísticos de vinculación deseados son dos (Paredes, 2014):

1. Las mutaciones padre-hijo o madre-hijo, detectadas en la práctica forense, durante las pruebas de identificación genética y establecimiento de relaciones de parentesco y/o consanguinidad entre individuos.
2. Las mutaciones de origen somático, de poca o nula ocurrencia en los casos forense o de criminalidad.

La resolución de casos de consanguinidad entre individuos y de los casos de casuística forense, por medio del ADN; contribuye a disminuir los conflictos sociales, la violencia familiar, la violencia social, los niveles de intolerancia en nuestra sociedad y resentimientos; además de contribuir a disminuir los factores asociados a la aparición y prevalencia de trastornos en el entorno socio familiar (Situación de la Salud en Panamá 2013).

El tener información precisa, actualizada y vigente en cuanto a la dinámica de los casos de paternidad, tales como: casos de paternidad positiva, casos de paternidad no incluyente, extranjeros que solicitan la paternidad, casos de paternidad por Delitos Sexuales permitirá establecer políticas financieras, económicas, educativas y culturales al respecto.

### 1.1.1 El problema de investigación

¿Existe relación entre el número de mutación del ADN (STRs) en la población panameña y aspectos sociodemográficos como: género, edad paternal, edad maternal y origen geográfico?

### 1.2 Justificación

Las pruebas para la determinación de la consanguinidad familiar y/o la vinculación individualizante en casos de casuística forense, se realizan mediante el análisis de regiones de ADN del tipo Microsatélites (STRs), estos marcadores genéticos constituyen una valiosa herramienta forenses y de consanguinidad, debido a estabilidad, reproductiva, herencia mendeliana, fácil interpretación, procesamiento automatizable.

Estas regiones de ADN presentan una tasa de mutación o cambios en su secuencia, tales que trae consigo la dificultad agravada en la asignación de la relación filial y/o vinculación certera de un delincuente en un caso forense o criminal.

Para superar ese escollo, se requiere del estudio y determinación de las tasas y frecuencia de mutación de ADN de las regiones cortas de repetición (STR) de la población particular. Una mutación es, por ejemplo, cuando una célula al dividirse y por ende al realizar una copia de su molécula de ADN y, por alguna razón, esa copia no es exactamente a la secuencia de ADN original, se habla entonces de una mutación; una mutación es cualquier cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN, es la fuente primaria de variabilidad genética en una población.

Si bien es cierto el estudio del ADN, es un elemento convincente en el combate a la delincuencia (homicidios, violaciones, Tráfico de niños, robos a mano armada, etc.), y la violencia de género y de indiscutible importancia en el otorgamiento de

una consanguinidad al individuo, lo que le permite tener sentido de pertenencia social, familiar, y derechos humanos. Para el logro certero de estos objetivos, se hace necesario el conocer la frecuencia y tasa mutacional de la población panameña.

Resumidas cuentas este estudio sustenta su contribución en el Programa Nacional de Salud (PNS Varela, 2019) y en el Programa Nacional de Ciencia y Tecnología (PENCIYT 2015) y contribuirá a

1. Aportar mayor certeza y fiabilidad a la interpretación de los resultados de consanguinidad genética familiar (Ministerio de Salud de Panamá, 2016).
2. Aportar certeza en la interpretación y vinculación o no de un individuo involucrado en la casuística forense (Ministerio de Salud de Panamá, 2016).
3. Valorar los eventos mutacionales del ADN de la población panameña, y relacionarlos con aspectos como sexo, edad, origen geográfico y evolución poblacional. (Ministerio de Salud de Panamá, 2016).
4. Contribuir a impulsar el Programa PENCIYT 2015-2019, en cuanto a la creación, difusión y transferencia de conocimientos, entendiendo que existe una correlación directamente proporcional entre el conocimiento científico y el desarrollo sostenible, el desarrollo económico, desarrollo social y cultural de nuestro país.
5. Comprender, analizar y conocer certeramente la dinámica y comportamiento social, tal cual se enmarca en nuestro cuarto objetivo específico, permitirá afrontar los problemas y coadyuvar a las soluciones del desarrollo nacional. (PENCIYT, 2015-2019).

### 1.3 Hipótesis

**Ha1:** Existe relación entre el número de eventos Mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en la República de Panamá, con aspecto sociodemográfico: edad parental.

**Ho1:** No existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en la República de Panamá, con aspecto sociodemográfico: edad parental.

**Ha2:** Existe relación entre el número de eventos Mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano de mujeres y del ADN humano de hombres en la República de Panamá.

**Ho2:** No existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano de mujeres, y del ADN Humano de hombres en la República de Panamá.

**Ha3:** Existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en las provincias o región geográfica de la República de Panamá.

**Ho3:** No existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en las provincias o región geográfica de la República de Panamá.

### 1.4 Objetivos

#### 1.4.1 Objetivo General

Analizar los eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STR) del ADN de la población panameña, y su relación con aspectos sociodemográficos como: género, edad maternal, edad paternal, origen geográfico.

#### 1.4.2 Objetivos Específicos

1. Analizar las variables socio-demográficas como: el género, edad maternal, edad paterna, origen geográfico, sobre el resultado mutacional de los biomarcadores moleculares (STR) en la población panameña.
2. Analizar la tasa de mutación (TA) de las regiones cortas de repetición (STR) del ADN de la población panameña, a partir de las transmisiones hereditarias observadas, en los casos de investigación de la consanguinidad.

## **CAPÍTULO II**



## **CAPITULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1 El Ácido Desoxirribonucleico (ADN+) y las Regiones Cortas de Repetición (STR)**

ENCODE (Enciclopedia of DNA Elements), propuso el Proyecto del Genoma Humano, cuyo objetivo principal fue la genotipificación de la biomolécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN) humano y del ratón, Proyecto que hoy en día ha logrado el Mapeo y la caracterización de elementos funcionales de coordinación y análisis del ADN Humano y del ratón (Feingold et al., 2004).

Este avance tecnológico y científico, condujo el desarrollo y el impulso de áreas científicas desconocidas e incipientes para el ser humano, tales como: farmacogenética, diagnóstico de enfermedades raras, interpretación del genoma, variación genética humana, genómica del Cáncer, entre otras (Tolosa, 2019).

Avery, MacLeod y McCarty a través de una gran cantidad de experimentos lograron determinar que la biomolécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN), contiene la información genética necesaria para las funciones y reproducción de las células (Orengo, 2013).

Watson James y Francis Crick, con el apoyo teórico de la información que se tenía al respecto de la biomolécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN), diseñaron un modelo adecuado a las particularidades, funciones y estructura de la molécula que resultaría en uno de los más importantes avances científicos del siglo 19. (Orengo, 2013).

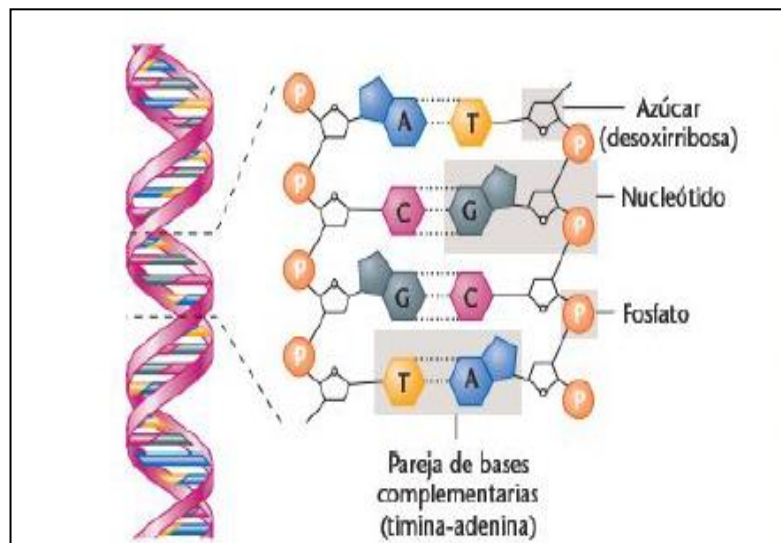
Los postulados de los diseñadores de la biomolécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN), consideran que los componentes estructurales de la gran Biomolécula, consta de cuatro nucleótidos a saber: Adenina, Guanina, Citosina y Timina;

nucleótidos formados fundamentalmente de un grupo Fosfato, una Azúcar (Desoxirribosa) y una base Nitrogenada (Purina o Pirimidina) (Para et al., 2014).

Las bases Nitrogenadas forman puentes de hidrógeno entre ellas de manera específica, siendo así que la Guanina se une con la Citosina y la Adenina se une con la Timina (Lisker, 2013).

Los nucleótidos (A, T, C, y G) están colocados u ordenados uno seguido del otro, lo que hace posible la conformación de dos cadenas o hélices antiparalelas y enrolladas sobre su propio eje, que aunado a los puentes de hidrogeno, se garantiza una fuerte cohesión molecular. Ver Fig. 1 (Lisker et al., 2013).

**Figura 1. Modelo Estructural de la Molécula de ADN.**



Fuente: Lisker, 2013 .

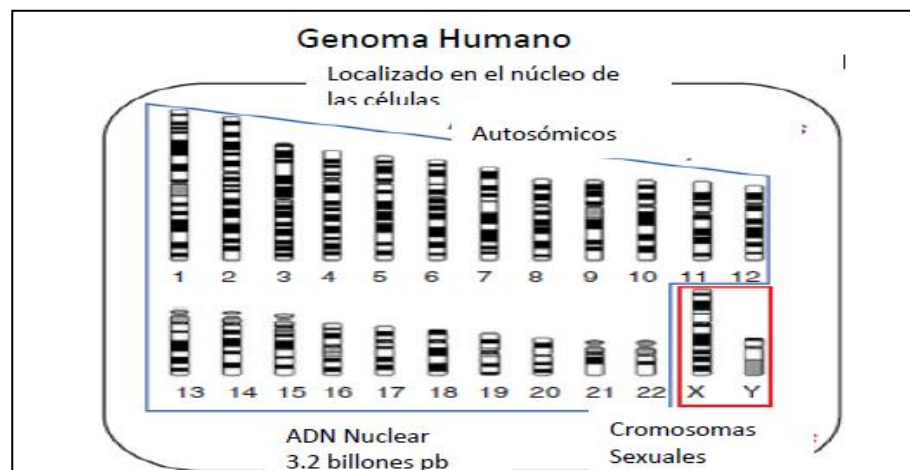
Según Ramírez en 2014, los ganadores del Premio Nobel, Watson y Crick y colaboradores, al desarrollar su Teoría Molecular de la Estructura de la molécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN), hicieron hincapié en lo siguiente:

- " Las dos cadenas son antiparalelas; es decir, la orientación C-5'-C-3' va en direcciones opuestas.

- Las bases de las dos cadenas yacen formando estructuras planas y perpendiculares al eje; están apiladas unas sobre otras, separadas por 3,4 Å (0,34 nm), y se encuentran en el interior de la estructura.
- Las bases nitrogenadas de las cadenas opuestas están apareadas como resultado de la formación de puentes de hidrógeno; en el ADN sólo se permiten los emparejamientos A con T y G con C.
- Cada vuelta de la hélice tiene una longitud de 34 Å (3.4 nm); de este modo, cada vuelta de la cadena contiene 10 bases.
- En cualquier segmento de la molécula, se observa un surco mayor y un surco menor que se alternan a lo largo del eje.
- La doble hélice mide 20 Å (2.0 nm) de diámetro". (P.14).

Con respecto a las funciones de la molécula de Acido Desoxirribonucleico (ADN); depende del hecho de que en el cuerpo humano encontramos dos tipos de células a saber: las células somáticas que son todas aquellas células cuyo complemento genético es  $2n$ , se constituyen de 46 pares de cromosomas; 23 provenientes de la madre y 23 provenientes del padre. Estos son los cromosomas que constituyen los tejidos corporales. Fig. 2 (Butler, 2015).

**Figura 2. El Cromosoma Humano.**

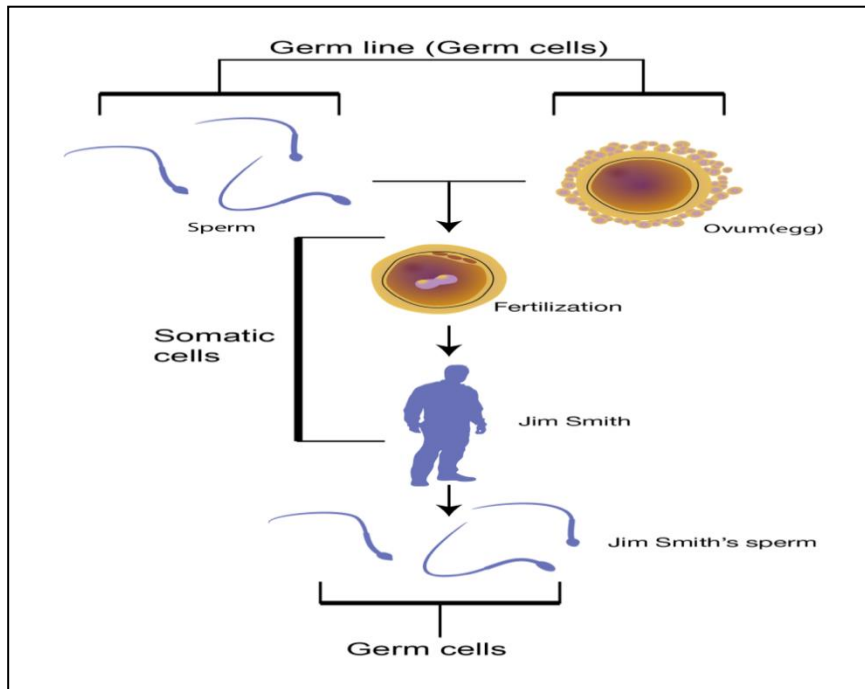


Fuente: Butler, 2015.

En cambio, las células sexuales, poseen un complemento genético  $n$  y son aquellas células que por procesos de Ovogénesis o Espermatogénesis originan

los espermatozoides en el caso de los hombres y los óvulos en el caso de las féminas; además los cambios y/o mutaciones que ocurren en estas células se transmiten a la descendencia (Feingold et al., 2004).

**Figura 3. Origen de las Célula Germinales y las Células somáticas.**



Fuente: Feingold et al., 2004.

La biomolécula de Ácido desoxirribonucleico, tiene la función de contener toda la información necesaria para la sobrevivencia, crecimiento y desarrollo de un individuo, ello solo es posible si la información contenida en su estructura molecular es transcrita para la fabricación de estructuras complejas llamadas proteínas, responsables de una gran cantidad de funciones vitales (Feingold et al., 2004).

Las instrucciones para la producción de proteínas, está contenida en una pequeña secuencia de la biomolécula de Ácido desoxirribonucleico (ADN) llamada gen, estos son las unidades estructurales, funcionales y operativas básicas de la

herencia en los seres superiores, incluyendo el hombre; se estima que los seres humanos contamos con alrededor de 25,000 genes, coincidiendo entre personas en un 99,00 % y difiriendo en un 1% (Para et al., 2014).

Existen los genes que contiene información para la producción de proteínas (ADN codificante) y representa el 2% de la biomolécula de Ácido desoxirribonucleico (ADN), dicho de otra forma, son los responsables de las características fenotípicas de un individuo, es decir su color de piel, color de los ojos, estatura, fisiología, inteligencia, propensión a enfermedades; en cambio existe otro tipo de genes que no codifican para la conformación de proteína (ADN no codificante), usualmente llamado biomolécula de Ácido desoxirribonucleico ADN Basura, representante del 98 % del ADN; sin embargo las últimas investigaciones indican que este “ADN Basura” está íntimamente relacionado con la activación, regulación y el par de ciertos genes codificantes, la identificación de individuos, entre otras funciones (Feingold et al., 2004).

Investigaciones realizadas por biólogos como Frederick Griffith en 1928; Oswal Avery en 1944, Martha Chase y D Hershey sobre la molécula del ADN y sus mecanismos de transmisión de la información genética; aunado al ya mencionado descubrimiento del modelo de la estructura del ADN por Watson y Crick, se dio la fortaleza teórica suficiente para despejar las dudas sobre el hecho de que la biomolécula de Ácido desoxirribonucleico (ADN), es la molécula responsable de la transmisión de la información genética de padres a hijos (Para et al., 2014).

Estos estudios igualmente contribuyeron al establecimiento de la Teoría “Dogmática Central de la Biología Molecular”; propuesta por Crick en 1970, referente a la fluidez de transmisión de la información genética; la cual establece que la información presente en el ADN es transcrita al ARN (ácido Ribonucleico) y a partir de éste se traduce la información genética para la creación de proteínas (Robertis, 2004).

Años después este dogma fue modificado, debido a nuevos descubrimientos en el cual se demostró que la información genética puede darse desde el ARN al ADN, por medio de un proceso llamado transcripción inversa (Para et al., 2014).

En cuanto al polimorfismo de la molécula del Acido desoxirribonucleico (ADN), en los seres vivos aproximadamente el noventa y nueve por ciento (99%) del Ácido Desoxirribonucleico, es similar en todos los individuos de una especie, quienes difieren en un 1%, es decir los individuos de una misma especie varían solo en el uno por ciento de su ADN, estas variaciones en la secuencia del ADN, son llamadas Polimorfismo del ADN (Lewin, 2008).

Esta variación polimórfica en el ADN, es de gran utilidad en la Genética Poblacional y es la que permite realizar estudios de Paternidades, Identificación Criminal, diferenciar un individuo del otro, determinar las distancias genéticas en las poblaciones estudiadas, estudios de diversidad genética, construcción de mapas filogenéticos, estudios de asociación y origen étnico, identificación individual y familiar, genética forense y de criminalística (Octavio, 2013).

En la naturaleza existen una variedad de polimorfismos genéticos, y los mismos son clasificados u ordenados basados en su estructura molecular, distribución genómica, su estabilidad e incluso la forma en que se transmiten a la siguiente generación (González, 2003).

Según Checa, (2007), usualmente los Polimorfismos del ADN, se clasifican basados en dos propiedades a saber: su naturaleza íntima y por su sistema de detección.

Señala Checa 2007, que serían los Polimorfismo de Tipo I llamados RFLP, los que se detectan a través de la técnica de geles de poliacrilamida, estos Polimorfismo del ADN por lo general, se originan o surgen por la pérdida de una

o varias secuencias debido a mutaciones puntuales. Los polimorfismos del ADN Tipo II, son secuencias de ADN que oscilan entre un par de base y 1 kilobyte, incluyen a los mini satélites y microsátélites. Por último, tenemos los Polimorfismo Tipo III, son originados también por mutaciones puntuales que no afectan la longitud ni expresividad de la molécula de ADN.

Entre los Polimorfismos más conocidos, se encuentran: las regiones cortas de repetición (STRs), Polimorfismos de Nucleótidos Únicos(SNP), Cromosoma Y, ADN Mitocondrial, entre otros (Orengo, 2013).

Las regiones cortas de repetición (STR), son secuencias muy cortas de ADN, formados de entre dos (2) y seis (6) pares de base (pb), secuencias que se repiten consecutivamente y hace posible la identificación de los individuos (Orengo, 2013).

Según (Aranguren, 2005), los microsátélites son:

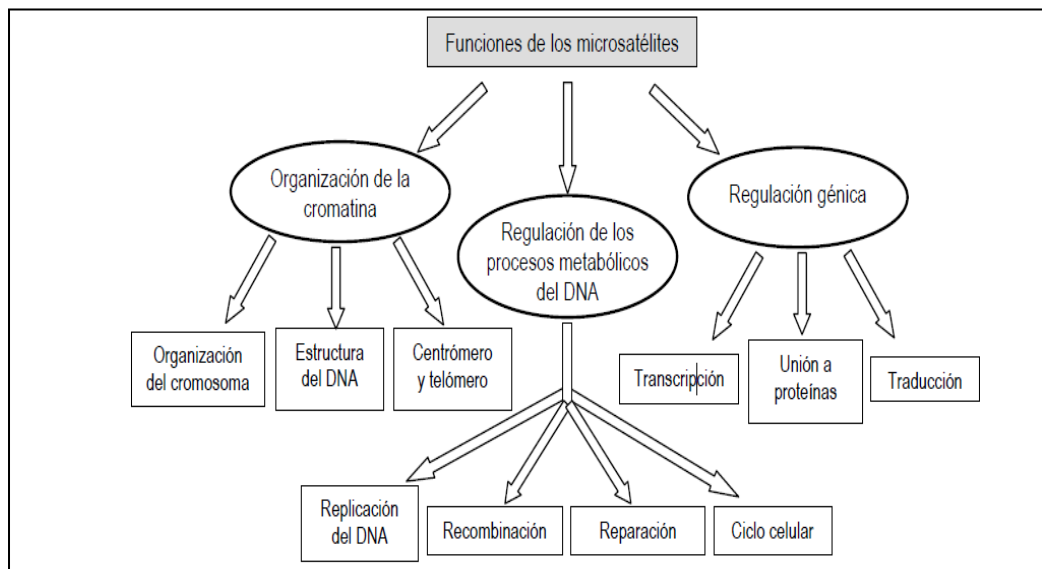
**“...una poderosa herramienta para estudios genéticos, presentan un elevado grado de polimorfismo, su herencia es mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), son fáciles de medir y analizar, tienen una confiabilidad del 100%, repetitivos y automatizables. Estos marcadores se encuentran generalmente en regiones no codificantes del genoma y distribuidos uniformemente...” (p. 31)**

Demarchi en el año 2009, señaló que entre las ventajas que ofrecen el estudio de los microsátélites tenemos:

**“(1) Son encontrados en gran número y esparcidos uniformemente a través del genoma; (2) Dada su alta tasa de mutación (entre  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ), la mayoría son polimórficos, aún en poblaciones donde existe baja**

variabilidad en otros marcadores (proteínas, ADN mitocondrial);3) La mayoría son selectivamente neutros, con lo cual resultan compatibles con los postulados de la genética de poblaciones; (4) Son relativamente fáciles de tipificar y los distintos alelos pueden ser caracterizados sin ambigüedades; (5) El análisis por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), de pequeños fragmentos de ADN permite la tipificación de muestras muy degradadas;(6) Por sobre las otras ventajas, la existencia de kits comerciales utilizados rutinariamente en genética forense hace posible la tipificación rápida y eficiente de, por ahora, hasta 15 sistemas genéticos (y más de 100 alelos) a partir de una sola reacción de PCR y a un costo cada vez más accesible...” (P. 74).

**Figura 4. Funciones de los Microsatélites.**



Fuente: Orengo, 2013.

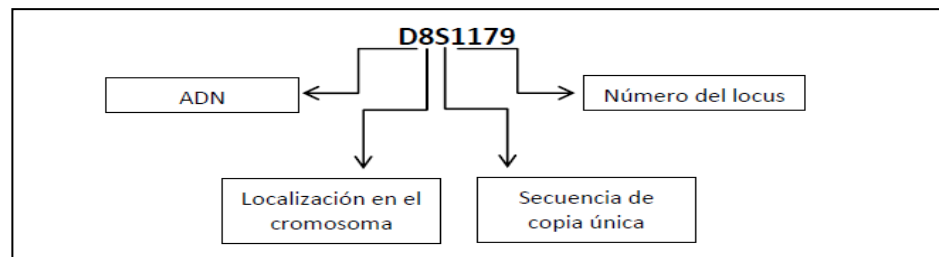
Ahora comprendamos más sobre la **Nomenclatura y clasificación de los microsatélites**. En cuanto a la clasificación y nomenclatura de los microsatélites del Ácido Desoxirribonucleico, se clasifican convencionalmente por la cantidad de uniones repetitivas, estas pueden ser Mono (una unidad repetitiva), Di (dos unidades), Tri, tetra (cuatro unidades de repetición), Penta (cinco unidades de repetición), o Hexa (seis unidades de repetición); siendo así tenemos que:



- Mono-nucleotídicas (una unidad de repetición) (3): A C A
- Di nucleotídicas (dos unidades de repetición) (4): AC AG AT CG
- Tri-nucleotídicas (tres unidades de repetición) (3): ACC AAG AAT
- Tetra-nucleotídicas (5): AAAG AAAT AACC AACG AACT

Igualmente es importante señalar que la nomenclatura del polimorfismo de microsatelites inicia con la letra del marcador **D**, los cuál significa DNA, seguido de un número representativo que indica en qué cromosoma se encuentra el microsatelite, el siguiente factor a nombrar en esta nomenclatura de STR es la letra **S** que indica que el marcador de STR estudiado es una secuencia de copia única, finalmente se coloca el número el locus de la región o marcador genéticos. Figura 5 (Butler, 2015).

**Figura 5. Nomenclatura de los Microsatelites.**



Fuente: Butler, 2015.

**Cuadro 1. Información de los Microsatélites Comúnmente Utilizados en el CODIS**

Locus (UniSTS) <sup>a</sup>	Chromosomal Location	Physical Position (May 2004; NCBI Build 35)	GenBank Accession (Allele Repeat No.)	Category and Repeat Motif	Allele Range
<b>TPOX</b> (240638)	2p25.3 thyroid peroxidase, 10th intron	Chr 2 1.472 Mb	M68651 (11)	Simple GAAT	4–16
D2S1338 (30509)	2q35	Chr 2 218.705 Mb	AC010136 (20)	Compound TGCC/TTCC	15–28
<b>D3S1358</b> (148226)	3p21.31	Chr 3 45.557 Mb	AC099539 (16)	Compound TCTG/TCTA	8–21
<b>FGA</b> (240635)	4q31.3 alpha fibrinogen, 3rd intron	Chr 4 155.866 Mb	M64982 (21)	Compound CTTT/TTCC	12.2–51.2
<b>D5S818</b> (54700)	5q23.2	Chr 5 123.139 Mb	AC008512 (11)	Simple AGAT	7–18
<b>CSF1PO</b> (156169)	5q33.1 c-fms proto-oncogene, 6th intron	Chr 5 149.436 Mb	X14720 (12)	Simple TAGA	5–16
SE33 (ACTBP2) (none reported)	6q14 beta-actin-related pseudogene	Chr 6 89.043 Mb	V00481 (26.2)	Complex AAAG	4.2–37
<b>D7S820</b> (74895)	7q21.11	Chr 7 83.433 Mb	AC004848 (13)	Simple GATA	5–16
<b>D8S1179</b> (83408)	8q24.13	Chr 8 125.976 Mb	AF216671 (13)	Compound TCTA/TCTG	7–20
<b>TH01</b> (240639)	11p15.5 tyrosine hydroxylase, 1st intron	Chr 11 2.149 Mb	D00269 (9)	Simple TCAT	3–14
<b>VWA</b> (240640)	12p13.31 von Willebrand factor, 40th intron	Chr 12 5.963 Mb	M25858 (18)	Compound TCTG/TCTA	10–25
<b>D13S317</b> (7734)	13q31.1	Chr 13 81.620 Mb	AL353628 (11)	Simple TATC	5–16
Penta E (none reported)	15q26.2	Chr 15 95.175 Mb	AC027004 (5)	Simple AAAGA	5–24
<b>D16S539</b> (45590)	16q24.1	Chr. 16 84.944 Mb	AC024591 (11)	simple GATA	5–16
<b>D18S51</b> (44409)	18q21.33	Chr 18 59.100 Mb	AP001534 (18)	Simple AGAA	7–40
D19S433 (33588)	19q12	Chr 19 35.109 Mb	AC008507 (16)	Compound AAGG/TAGG	9–17.2
<b>D21S11</b> (240642)	21q21.1	Chr 21 19.476 Mb	AP000433 (29)	Complex TCTA/TCTG	12–41.2
Penta D (none reported)	21q22.3	Chr 21 43.880 Mb	AP001752 (13)	Simple AAAGA	2.2–17

Fuente: Fundamentals of Forensic DNA Typing, Butler, 2015.

Ahora analicemos el Mecanismo de obtención y detección de los microsatélites de ADN, para la obtención de ADN se pasa por varios procesos técnicos, metodológicos y procedimentales estandarizados, y en algunas etapas del proceso depende del sustrato biológico con el que se trabaje (sangre, semen, tejido muscular, diente, saliva, huesos, célula nucleada) (Butler, 2015).

- **Extracción del ADN:** Es el primer paso para realizar en los procesos de estudios en que requiera de la molécula de ADN. Hoy día Existen una variedad de Kits comerciales, procesos manuales y procesos semiautomatizados y totalmente automatizados para tal fin. El cual tiene como objetivo fundamental romper la estructura fosfolipídica de la membrana celular y la membrana nuclear; además de procurar la ruptura de las proteínas histónicas que mantienen el ADN enrollado dentro del núcleo celular; de manera que se permita extraer el ADN del núcleo. (Herrera, 2014).
- **Purificación del ADN:** El siguiente paso consiste en purificar ese ADN extraído, al lograrse la extracción del ADN, se hace posible la obtención igualmente de una gran cantidad de grasa, azúcares, lípidos, proteínas, restos celulares y enzimas innecesarias para nuestros estudios y perjudiciales para la integridad y calidad de ADN que se pretende. (Luque, 2002).
- **Cuantificación de la Molécula de ADN:** Es el paso que nos permite saber con cuanta concentración de ADN contamos para nuestros futuros estudios. (Nussbaum, 2012).
- **Amplificación de la molécula de ADN:** La misma se realiza a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa, es una técnica que permite la amplificación in vitro de millones de veces la región de interés de la molécula de ADN, (Beas, 2009).

- **Detección de las regiones de interés** por medio del Electroforesis Capilar o geles de poliacrilamida o Agarosa (Herrera, 2014).

Hoy día se cuenta con una gran cantidad de recursos automatizados, semiautomáticos, de precisión, además de reactivos químicos basados en fluorocromos.

## 2.2 Las mutaciones en los microsatélites (str)

Una mutación es cualquier alteración en la estructura molecular del ADN o alteración del cromosoma, son cambios nuevos que pueden ser transmitidos a la siguiente generación. Es un cambio en el material genético, que involucra deleciones cromosómicas, alteraciones cromosómicas y alteraciones en la secuencia del ADN (Klug, 2006).

Una mutación es el cambio, de una secuencia del genoma. El mismo se transmite como un carácter heredable, son muy frecuentes en los mamíferos, aves, bacterias, son de un valor enorme para los biólogos genetistas y biólogos poblacionales, porque las misma contienen un valor evolutivo importante, son generadoras de diversidad genética (Barbadilla, 2020).

Las mutaciones tienen ventajas y desventajas; la aparición de estas aumenta los polimorfismos de una especie, es decir su variabilidad génica y aporta ventaja evolutiva; en cambio cuando las mutaciones son desfavorables causan enfermedades patológicas hereditables, con efectos altamente perjudiciales individualmente y a nivel de especie. (Benavides, 2012).

Las mutaciones ocurren en todo el genoma, tanto en regiones que codifican para proteína como en regiones que no codifican para proteínas, en el ADN Nuclear, el

ADN Mitocondrial, en células somáticas (del Cuerpo) o en células sexuales (Ovulo o espermatozoides) (Luque, 2002).

Las mutaciones, y la recombinación genética que ocurre durante la meiosis, son la principal fuente de variabilidad genética en todo tipo de organismos, es por ello que las mutaciones, son de gran importancia de aplicabilidad y en aspectos como evolución de los organismos, diagnóstico de enfermedades, alteraciones patológicas, identidad de los individuos y vinculaciones familiares (Luque, 2002).

Según Orego en 2013, el mecanismo por el cual ocurren las mutaciones en el ADN tiene causas endógenas, que son aquellas fortuitas o espontaneas (Errores de replicación, inestabilidad química, diseminación oxidativa de las bases), en cambio aquellas que ocurren por factores externos, tales como Agentes físicos, Agentes químicos y Agentes Biológicos, estos son considerados causas exógenas

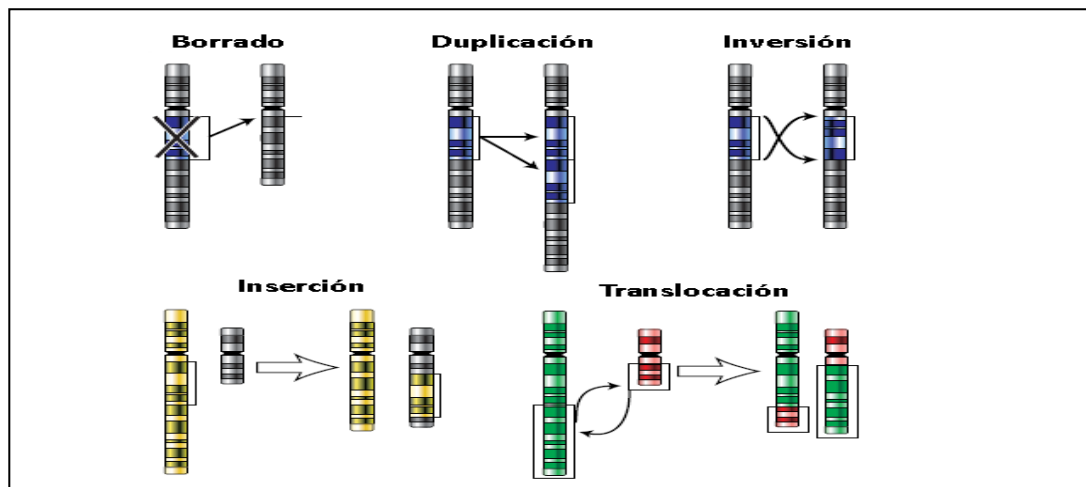
Existen varias formas de clasificar los tipos de mutaciones; para efecto de esta investigación consideraremos la siguiente clasificación, atendiendo al lugar o tipo de células donde ocurre la mutación:

- **Mutaciones Germinales:** Son aquellos cambios en la secuencia del ADN que ocurren en las células reproductoras (Ovulo o espermatozoides), durante la ovogénesis u la espermatogénesis; su particularidad es que se transmite a los hijos (Orengo, 2013).
- **Mutaciones Somáticas:** Son aquellas mutaciones que acontecen en las células somáticas, ocurren durante la mitosis y las mismas solo afectan a la célula específica del cuerpo de los individuos y no se transmiten a la descendencia (Orengo, 2013).

Otra forma de determinar el tipo de mutaciones es en función de la forma y o magnitud en que altera o cambia la secuencia del ADN:

- **Alteraciones cromosómicas:** se da cuando una sección del cromosoma se intercambió con otro cromosoma, ocasionalmente causa la muerte del individuo y si el mismo no muere se verá afectado desde el punto de vista fisiológico, anatómico o en su fenotipo., son las llamadas deleciones, duplicación, inversión, translocación, etc. Figura 6. (Tipos de mutación | Fundación CK-12, 2020).

**Figura 6. Alteraciones Cromosómicas.**



Fuente: Tipos de mutación | Fundación CK-12, 2020.

Cuando la mutación ocurre en un punto del cromosoma, se determina **Mutación Puntual**, el efecto o afectación de una mutación puntal es dependiente de que tanto afecta la secuencia del codón. Cuadro2. (Tipos de mutaciones | Guía Metabólica, 2020.)

## Cuadro 2. Tipos de Mutaciones

Tipo	Descripción	Ejemplo	Efecto
Silenciosa	codón mutado codifica el mismo aminoácido	CAA (glutamina) → CAG (glutamina)	ninguno
Con cambio de sentido	el codón mutado codifica un aminoácido diferente	CAA (glutamina) → CCA (prolina)	variable
Finalizadora	el codón mutado es un codón de término prematuro	CAA (glutamina) → UAA (término)	normalmente grave

Fuente: Tipos de mutaciones | Guía Metabólica, 2020.

Los microsatélites de STRs se caracterizan por su baja tasa de mutación, la cual puede oscilar entre  $2,1 \cdot 10^{-2}$  --  $2,7 \cdot 10^{-5}$  (Ye et al., 2017; Bhargava, 2010; Ye et al., 2017; Junge, 2006; Ellegren, 2016; Becker et al., 2007; Vázquez, 2014; Leclercq, 2010).

Estas variaciones en las tasas de mutación también varían en función del largo de la secuencia de repetición; además del tipo de marcador molecular (Shao et al., 2016; Weber, 1993).

Los microsatélites de tipo mononucleótidos, generalmente presenta una mayor tasa de mutación que los di, tri o pentanucleótidos, ello es así debido a que la probabilidad de Re asociación errónea se hace mayor con el largo y la simplicidad del microsatélite, muy por el contrario, cuando los microsatélites son interrumpidos su variabilidad es menor, y los nucleótidos no correspondientes al STRs del loci funciona como señal de pare del anclaje (Vázquez, 2014).

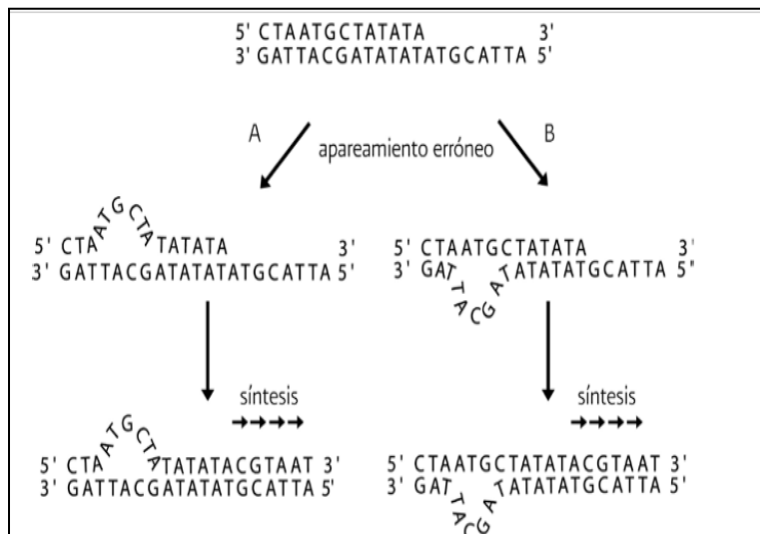
Tomando en consideración que las tasas de mutación de los STR es baja y a la particularidad de que metabólicamente no expresan información para generar proteínas, sus loci exhiben un elevado polimorfismo (Ellegren, 2016).

El mecanismo y el momento de ocurrencia de estas mutaciones se prevé que ocurre en dos eventos distintos, estos son: en la recombinación (**crossing-over**) y durante la replicación resbale de la Taq polimerasa (**“slippage”**) (Smith, 2018, Vázquez, 2014).

De estos mecanismos el más aceptado es el de **“slippage”** de la Taq polimerasa (Ellegren, 2004; Vázquez, 2014).

El número de repeticiones de los microsatelites es causado por las deleciones e inserciones de la molécula de ADN la misma es causada por el mecanismos **“slippage”** el cual según su descubridor ocurre durante la síntesis de ADN (Leclercq et al., 2010).

**Figura 7. Modelo de Explicación del Origen de las Mutaciones “sppliage”.**



Fuente: Vázquez, 2014.



Según Valdés *et al.* 1993, Di Rienzo *et al.* 1994, Auton *et al.*, 2015, Planter, n.d, Paredes, 2014; existen varios modelos para explicar las mutaciones, los cuales son:

1. SMM ***step mutation model*** - Modelo de mutación de un paso, en el que el alelo mutado depende directamente de la condición ancestral del alelo original, siendo que, si el alelo original es de diez pares de bases, el alelo mutado puede ser de un paso hacia adelante (11 pares de bases) o por el contrario puede ser de un paso hacia atrás (9 pares de base).
2. TMP Modelo de Mutación de dos pasos: considera que puede haber mutaciones de dos pasos o de mayor tamaño. Y finalmente el modelo.
3. IAM modelo de alelos infinitos, el mismo señala que todos los alelos diferentes al alelo original existentes son variantes producidos por el mecanismo de inserción/selección y los mismos pueden incluir más de dos nucleótidos.

La mutación de los microsatélites de las regiones cortas de repetición (STR), es importante debido a que se pueden utilizar estos marcadores mutados y no mutados para el estudio de la evolución poblacional, el mapeo de genes de enfermedades, para valorar las diferencias entre un individuo y otro en una misma población, también como determinante de la paternidad u otro grado de relación filial, incluso para el análisis de la variabilidad génica entre especies; los estudios de asociación de genes se basan en el desequilibrio de ligamento el cual es altamente dependiente de la tasa de mutación (Weber, 1993; Valdés *et al.* 1993).

Es importante analizar el ***Género y la mutación en las regiones cortas de repetición (STR)***. Las tasas de mutación de los microsatelites de las regiones cortas de repetición (STR) en la gran mayoría de los locus de las células germinales, se ha observado que son más elevadas en los hombres en

comparación con las mujeres (Mardini et al., 2013; Shao et al., 2016; shao et al., 2015; Jin et al., 2016).

La comunidad genetista considera que los espermatozoides experimentan más ciclos de replicación meiótica y mitótica durante la espermatogénesis cigótica que durante la ovogénesis. Se considera que cuantos más ciclos de replicación ocurre en una célula, mayor es la frecuencia de la mutación (Maher et al., 2016).

Otra variable que tiene que ver con la mutación de las regiones cortas de repetición (STR) es la edad. La mutación de los STR se ve afectada por varios factores tales como: el sexo, la edad y las arquitecturas de ADN (Shao et al. 2016; Rahbari et al. 2016; Goldmann et al., 2016).

La edad media de los hombres que portan mutaciones de las regiones cortas de repetición (STR), es significativamente mayor que la de los hombres que carecen de estas mutaciones (Junge et al. 2006; Greeff, 2015).

Esto es probablemente debido a que los espermatozoides experimentan más mitosis y, por lo tanto, tienen mayores posibilidades de mutación. Una esperma de hombres sufre alrededor de 380 y 540 mitosis a la edad de 28 y 35 años, respectivamente. Por lo tanto, de alguna manera, la tasa de mutación de STR depende de la edad de los hombres (Hohoff, 2006).

Finalmente analizaremos las **enfermedades** y la mutación en las regiones cortas de repetición (STR). El interés en la mutación de las regiones cortas de repetición (STR), proviene del descubrimiento de que algunas repeticiones de trinucleótidos están involucradas en enfermedades neurodegenerativas humanas (Weber, 1993).

Se sabe que las enfermedades asociadas a la repetición de trinucleótidos influyen en muchos trastornos raros, dominantes y principalmente neurológicos, como el síndrome de X frágil, la enfermedad de Huntington, la distrofia miotónica y ciertos tipos de ataxia. Hasta la fecha, las enfermedades asociadas con la repetición de trinucleótidos solo se han identificado en humanos (Weber, 1993).

Esto ha llevado a la hipótesis de que la presencia de repeticiones de trinucleótidos dentro de ciertos genes relacionados con el cerebro puede contribuir a la evolución de la función cerebral (Weber, 1993).

En general, la gravedad de la enfermedad a menudo parece correlacionarse con el grado de expansión anormal. Por ejemplo, la repetición CGG, que codifica corridas de arginina, reside en el extremo 5' en el frágil síndrome de retraso mental X. Por lo general, el número de repeticiones oscila entre 6 y 46, con un promedio de 29. Cuando las repeticiones se sobrepasan 52 veces, la región STR será inestable durante la meiosis, con la consecuencia de una expansión rápida. El número de repetición de CGG en el transportador sin ningún síntoma oscila entre 60 y 200. Sin embargo, el paciente con síntomas obvios tiene más de 230 repeticiones de CGG (Shao et al., 2015).

Por lo tanto, para comprender mejor estas enfermedades neurodegenerativas humanas, es importante comprender el proceso de mutación particular de las regiones cortas de repetición (STR) (Shao et al., 2015).

## **CAPÍTULO III**

## **CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO**

### **3.1 Diseño de investigación y tipo de estudio**

Es una investigación de enfoque cuantitativo, la cual recopila datos sobre las variables investigadas (Tasa de Mutación, género, edad y región geográfica de los parentales que mutan) de forma objetiva, sistemática, a través de mediciones y análisis estadísticos, que nos permiten dar respuesta a los objetivos, hipótesis y pregunta de investigación planteados. (Monje 2011; Hernández et al 2015; Ramos 2015 y Lion, 2015).

El Diseño que no manipula las variables, no-experimental, se realiza en un laboratorio de forma controlada, bajo un método riguroso y sistémico que hace posible que las variables sean identificadas y analizadas; (Hernández , 2015).

Es una investigación descriptiva; porque se detallan, exponen, identifican y se caracterizan las variables sociodemográficas y genéticas estudiadas. Se explican las frecuencias y tasas de las variables, las cantidades genéricas de los individuos involucrados, a través de una proceso racional, estructurado minuciosamente, atendiendo a los objetivos mediante la utilización de herramientas e instrumentos de medición adecuados (Hernández 2015; Kumar 2011; Loeb et al. 2017).

La transversalidad en esta investigación obedece al hecho de que la recogida de datos se realizó una vez durante una cantidad de tiempo limitada. No hay seguimiento de las variables, se miden una sola vez. (Hernández 2015; Fidias 2012; Monje 2011).

El estudio es de tipo retrospectivo, pues se realizó con base a la información registrada en la historia de las variables que presentan los actores (Monje Álvarez, 2011; Martínez 2010). Se revisaron y analizaron los registros de expedientes de

solicitudes de pruebas de filiación biológicas archivadas en el Laboratorio de Análisis Biomolecular del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses.

### 3.2 Población o Universo

#### **Población para el estudio de las mutaciones de STR:**

Nuestra población y muestra de estudio fueron 5,088 perfiles genéticos, obtenidos de fluidos de sangre y/o tejido óseos, epitelial o dientes de individuos (madre-hijo-padre) involucrados en casos de investigación de la paternidad y/o maternidad, registrados desde el año 2016 al año 2019, en el laboratorio del Análisis Biomolecular del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Panamá/Veraguas, provenientes de todas las provincias y Comarcas de la república de Panamá, con resultados no excluyentes o confirmatorio de la relación de paternidad y/o la maternidad.

**La muestra estadística para el estudio fue censal, es decir se eligieron a todos los individuos de la población.**

Esto con la finalidad de encontrar mutaciones, cumplir los objetivos planteados y las exigencias de la comunidad Internacional en Genética Forense, en cuanto a la cantidad de muestras válidas para estudios de Población, utilizando Regiones Cortas de Repetición (STR) (Carracedo et al., 2013).

#### **Criterios de inclusión, exclusión:**

**Inclusión: Muestra para el conteo directo de las mutaciones germinales y cálculo de tasa mutacionales:**

- Los individuos cuyos perfiles genéticos de las muestras biológicas seleccionadas, estuviesen en la base de datos del Laboratorio de Análisis

Biomolecular de Panamá/Veraguas del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forense de Panamá.

- Los perfiles genéticos seleccionados, son de casos de investigación de consanguinidad, en donde se da por hecho cierto la confirmación genética o No-exclusión del parentesco cuestionado (**PATERNIDAD/MATERNIDAD**), en los cuáles se evidencie o detecte al menos una no coincidencia aislada (**MUTACIÓN**), es decir, donde se observe que, en un grupo de marcadores autosómicos, uno (o dos) de ellos, fueron incompatibles con la paternidad y/o la maternidad biológica cuestionada.

**Exclusión: Muestra no aptas para el cálculo de tasa mutacionales:**

- ❖ Los casos investigados, en donde se observaron tres o más marcadores no compatibles con la consanguinidad estudiada.
- ❖ Los casos en donde los perfiles genéticos de las muestras biológicas, no cuente con el documento de consentimiento informado para estudio de población.
- ❖ Los casos de investigación filial con presunto padre o madre fallecidos.

### 3.3 Variables de la Investigación

**Variable 1: Edad**

Definición conceptual: Es el número de años cumplidos desde su nacimiento hasta la fecha de la toma de muestra (RAE, 2021).

Definición operacional: La misma se determinó a partir de lo consignado en su cédula de identidad personal.

**Variable 2: Sexo de los progenitores**

Definición conceptual: Es la característica biológica obtenida al momento de la concepción (RAE, 2021).

Definición operacional: La misma se determinó a partir de lo consignado en su cédula de identidad personal.

**Variable 3: Región geográfica de los progenitores**

Definición conceptual: Lugar de nacimiento de los individuos muestreados (RAE, 2021).

Definición operacional: se determinó a partir de lo consignado en su cédula de identidad personal e información ofrecida por el individuo.

**Variable 4: Tasa de mutación**

Definición conceptual: Es la frecuencia en la que se producen nuevas mutaciones en un gen o la secuencia en cada generación (Butler, 2015).

Definición operacional: obtenida de la división del número de eventos de exclusión de consanguinidad aislada sobre el número total de meiosis.

### 3.4 Instrumentos, técnicas de recolección de datos y/o materiales

- **Instrumentos:**

Hoja de Matriz de datos, contiene la información de las personas a quienes se les colecta las muestras (Anexo 1).



- **Materiales:**

**Figura 8. Papel FTA (Flinders Technology Associates).**



Fuente: Avigen Brands, 2020.

**Figura. 9 Tubos de 0,2 ul, 1.5 ml y 2.0 ml.**



Fuente: Fischer Scientific, 2020.

**Figura 10. Termociclador PCR 9700**



Fuente: AppliedBiosystems, 2020.

**Figura 11. Analizador Genético ABI PRISM® 310.**



Fuente: AppliedBiosystems, 2020.

**Figura 12. Analizador genético 3500.**



Fuente: AppliedBiosystems, 2020.

### 3.5 Procedimiento

#### **Fase 1:**

#### **Colecta de las muestras Biológicas para la obtención del ADN.**

1. Desinfección y limpieza del área de colecta de muestra biológica, utilizando para ello alcohol con concentración del setenta por ciento.
2. Se le explicó al donante de la muestra, las razones de su presencia en nuestras instalaciones; se procede con el llenado de la hoja de trabajo, la firma del consentimiento informado por parte del donante y la identificación de la muestra.
3. Limpieza del dedo anular con alcohol al setenta por ciento y punción con una lanceta nueva, limpia y diseñada para esa labor.
4. Al momento que la sangre fluye, se acerca la tarjeta de papel FTA y se deja secar la misma a temperatura ambiente.

Las tarjetas FTA (Flinders Technology Associates), son utilizadas para registro, recogida, preservación y transporte de ácidos nucleicos, estas tarjetas contienen en su interior sustancias químicas que lisan las células, desnaturalizan las proteínas y protegen el ADN de las proteínas nucleasas, la oxidación, daños por Luz Ultravioleta, impiden el crecimiento de bacterias, hongos y cualquier clase de microorganismos (AVIAGEN, BRANDS, 2015).

En los casos o en la eventualidad de que las muestras correspondían a restos óseos se procedió de la siguiente manera

1. Limpieza de la muestra ósea, con la finalidad de eliminar elementos putrúlagos y tejido blando adherido al mismo, utilizamos para ello el reactivo duodecilsulfato sódico (SDS o NaDS) ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$ ) y una hoja de bisturí limpia.
2. Lavado de la pieza ósea con abundante agua destilada estéril, solución de hipoclorito al cinco por ciento.

3. Secado e irradiación con Luz Ultravioleta de la pieza ósea.
4. Pulverización de la pieza ósea utilizando un Taladro, modelo Dremell.
5. Se almacena el polvo obtenido, hasta su utilización.

El reactivo dodecilsulfato sódico (SDS o NaDS) ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$ ), es responsable de romper los enlaces no covalente de las proteínas que componen el tejido adherido a la pieza ósea, se une a las zonas a-polares de las proteínas, desnaturizándolas y haciendo posible que las mismas pierdan su estructura molecular nativa, y la remoción del tejido óseo.

### **Fase2:**

El procedimiento de **amplificación** de las regiones cortas de repetición (STR) de las muestras analizadas, independientemente del panel de amplificación, requirió la utilización de la técnica PCR (Reacción de la Cadena de la polimerasa), la cual consiste en:

1. Desnaturalización de la doble hélice de ADN, por medio de calor (95 grados centígrados)
2. Incorporación y Alineación en la molécula de ADN de las secuencias cortas de repetición (*primers*), las cuales tiene la responsabilidad de limitar las regiones de interés del ADN o las regiones que se amplificaran
3. Por medio de la enzima termoestable Taq Polimerasa, se incorporan nucleótidos a los extremos de los primers.

Este proceso se realiza, durante cada ciclo de la PCR, duplicándose de esa manera la secuencia de interés de manera exponencial, facilitando el análisis posteriormente.

Para la amplificación del ADN STRs, se siguieron los pasos validados e insertados en los paquetes comerciales: Identifiler® / Life technologies *Applied Biosystems* Co (Life Technologies Corporation, 2015) y los paquetes comerciales de la casa

comercial *PowerPlex 16®*, *Kits PowerPlex 18*, (Promega, 2016) *Kits PowerPlex 21* de la casa *Promega Co.* (Corporation, 2017).

### **Fase 3:**

La fase tres consiste en la **detección y asignación** de las regiones de ADN, previamente amplificadas; el proceso consistió en

1. Se preparó una mezcla de Formamida y del estándar de control interno, en un tubo eppendorf de 1.5 ml, de acuerdo con la cantidad perfiles genéticos a detectar, en concordancia con el panel de detección utilizado.
2. La mezcla previamente preparada, se agitó durante aproximadamente 20 segundos y posteriormente fueron colocados, proporcionalmente, en una placa de polipropileno 96 pocillos, de acuerdo con el número de muestras a analizar.
3. Se añadió a cada pocillo de la placa entre 0,5ng/ul a 1.0ng/ul del ADN amplificado y al menos un pocillo con 1.0 ul de escalera alélica.
4. La placa de 96 pocillos fue sellada con una septa, se elaboró un formulario de corrida en el software *Data Collection* y se corrieron las muestras de ADN amplificado, en los secuenciadores genéticos ABI 310, y/o ABI 3500, basados en electroforesis capilar de la compañía *AppliedBiosystems*.
5. Para la asignación de los Alelos en los marcadores correspondientes, se utilizó el software *GeneMapper ID V.3.2* y software *Genemapper ID-X v 1.2/1.2*.

Para la detección y asignación de los alelos de ADN amplificados, se siguieron los pasos validados e insertados en los paquetes comerciales: *Identifiler®* / Life technologies *AppliedBiosystems* o (Life Techonologies Corporation, 2015) y los *Kits* comerciales de la casa comercial *PowerPlex 16®*, *Kits PowerPlex*

18,(Promega, 2016) *Kits PowerPlex 21* de la casa *Promega Co.* (Corporation, 2017).

En cada etapa del proceso experimental, se utilizaron los controles positivos, negativos y blancos, que cumplieran con las exigencias, protocolos y procedimientos de la Comunidad Internacional Genética Forense (ISFG) y la Normas de Calidad ISO 17025-2005 de ensayos de laboratorio; la cual esta implementada en el Laboratorio de Análisis Biomolecular.

#### **Fase 4**

Se analizaron los perfiles genéticos (MADRE-HIJO-PADRE) por expediente de los casos y con la utilización del programa estadístico PATCAN 1.0, se estimó la probabilidad de coincidencia de la Paternidad/Maternidad correspondiente, tomando en consideración los parámetros estadísticos establecidos por la International Society Forensic Genetic (ISFG), se confecciona el Informe Pericial y se envía a la Autoridad solicitante.

#### **Fase 5**

##### **Selección de las muestras para la investigación de las Mutaciones de ADN:**

- Revisión digital y física de los expedientes de los casos con la finalidad de verificar fecha de nacimiento, número de identidad personal, nacionalidad, sexo, grupo etnofenotípico, si presenta o no alguna enfermedad genética, añadido a la firma de consentimiento informado de estudio genético poblacional de las muestras biológica obtenidas.
- Asignación de código de las muestras seleccionadas para el estudio;
- Se desarrolló una base de datos por **conteo directo** con la siguiente información:
  - ✓ institución solicitante de la prueba,
  - ✓ los marcadores STR polimórficos estudiados, en cada caso,

- ✓ resultados del análisis de la relación filial solicitada
- ✓ índice de paternidad (IP),
- ✓ números de marcadores (STR) estudiados,
- ✓ valor porcentual del resultado de la prueba(W),
- ✓ número de individuos por caso y edades,
- ✓ número meiosis paterna, número meiosis materna, por marcador y total, lo que permitirá obtener la Tasa de Mutación.

### Fase 6

- De los 1696 expedientes de casos seleccionadas al azar, casos de investigación de consanguinidad, en donde se da por hecho cierto la confirmación genética o No-exclusión del parentesco cuestionado (**PATERNIDAD/MATERNIDAD**), en los cuáles se evidencie o detecte al menos una no coincidencia aislada (**MUTACIÓN**), es decir, donde se observe que, en un grupo de marcadores autosómicos, uno (o dos) de ellos, fueron incompatibles con la paternidad y/o la maternidad biológica cuestionada.
- De dichos expedientes de casos de investigación de la paternidad/maternidad, se determinó el origen genetal de la mutación, la región geográfica de donde procede el progenitor que origina la mutación, la edad del progenitor que genera la mutación, si la misma es de un paso o dos. (hacia arriba o hacia abajo), igualmente se estima las características del marcador mutantes.
- Determinación del origen parental de la mutación, al analizar un marcador que presenta una mutación

Ejemplarizado seria:

**Tabla 1. Mutación de Origen Maternal.**

<b>Alelos del Padre</b>	<b>Alelos del Hijo</b>	<b>Alelos de la Madre</b>
11-12	11-15	14-16

**Tabla 2. Mutación de Origen Paternal.**

Alelos del Padre	Alelos del Hijo	Alelos de la Madre
20-25	21-15	15-16

**Tabla 3. Origen Inconcluso de la Mutación.**

Alelos del Padre	Alelos del Hijo	Alelos de la Madre
<b>11-12</b>	10-11	<b>11-12</b>
<b>7-7</b>	8-7	<b>7-7</b>

- De estos expedientes de casos de investigación de la paternidad/maternidad, se determina la Tasa de Mutación de los marcadores analizados, por medio del programa estadístico <http://statpages.org/confint.html>.
- Para estimar con precisión y mayor exactitud la Tasa de Mutación, se hizo necesario determinar el número de meiosis paternal y el número de meiosis maternal; como quiere que en esta investigación los casos, corresponden a tríos completos (madre-padre-hijo). Cada paternal aporta una meiosis por cada Locus estudiado.

El análisis de los datos obtenidos para el estudio de la relación entre la variable Tasa de Mutación, con las variables: género de los padres que originan la mutación, edad de los padres originan la mutación, región geográfica originan la mutación, se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS v24 (relaciones bivariadas) y programa estadístico XLTAT v 2020 (relaciones binomiales).



# **CAPÍTULO IV**

## CAPITULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

Durante los años de estudio, se analizaron un total de 1,696 casos de investigación de la relación filial (trio), representativo de 5,088 perfiles genéticos de la población panameña; utilizando para ello marcadores genéticos STRs, de tipo tetranucleotidos, y pentanucleotidos de uso común en los laboratorios forenses dedicados a la investigación forense y estudios de consanguinidad. Los datos se organizaron para dar respuesta a las Hipótesis, objetivos específicos, objetivo general y problema de investigación.

### **Hipótesis:**

**Ha1:** Existe relación entre el número de eventos Mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en la República de Panamá, con aspectos socio-demográficos como: edad parental.

**Ho1:** No existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en la República de Panamá, con aspectos socio-demográficos como: edad parental.

Se utilizó el programa estadístico XLSTAT 2000, para pruebas no paramétricas, Chi Cuadrado, obteniéndose un p valor de 0.0001, los que nos lleva a aceptar la hipótesis alterna y rechazar la hipótesis nula; es decir la información estadística obtenida nos lleva a establecer que existe relación entre las variables **edad de los parentales y número de mutaciones observadas**.

**Ha2:** Existe relación entre el número de eventos Mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano de mujeres y del ADN humano de hombres en la República de Panamá.

**Ho2:** No existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano de mujeres, y del ADN Humano de hombres en la República de Panamá.

Se aplicó el estadístico para pruebas no paramétricas, **Chi Cuadrado**, obteniéndose un p valor de 0.0001, los que nos lleva a aceptar la hipótesis alterna y rechazar la hipótesis nula; es decir la información estadística obtenida nos lleva a establecer que existen diferencias significativas, entre la variable número de eventos mutacionales observadas en los Hombres y el número de eventos mutacionales observadas en las mujeres.

**Ha3:** Existe relación entre el número de eventos Mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en las provincias o región geográfica de la República de Panamá.

**Ho3:** No existe relación entre el número de eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STRs) del ADN Humano en las provincias o región geográfica de la República de Panamá.

Se aplica el estadístico para pruebas no paramétricas, **Chi Cuadrado**, obteniéndose un p valor de 0.809, lo que lleva a rechazar la hipótesis alterna y aceptar la hipótesis nula; es decir la información estadística obtenida permite establecer que no existe relación entre las variables provincia o región geográfica y el variable número de eventos mutacionales observadas.

Si bien es cierto existen provincias en donde el número de eventos mutacionales es evidentemente mayor que otras regiones, dichas diferencias no son estadísticamente significativas.

### **Objetivos específicos:**

En cuanto a los objetivos de esta investigación, el primero fue: Analizar las variables socio-demográficas como: el sexo, la edad, origen parental y el origen geográfico, sobre el comportamiento mutacional de los biomarcadores moleculares (STR) en la población panameña.

**Origen parental de las mutaciones** En las 41 mutaciones germinales estudiadas, logramos determinar el origen parental de dichas mutaciones. El 73.17% de las mismas, se originaron en el padre y el 17.07% se originaron en la madre y en el 9.75%, no fue posible determinar el origen parental (Tabla 1).

La relación paterna-materna, con respecto al origen del número de eventos mutacionales fue de 4:1; es decir existe mayor frecuencia de eventos mutacionales de origen paterna (4) que de origen materna (1).

**Tabla 4. Origen Parental del Número de Eventos Mutacionales.**

<b>ORIGEN PARENTAL</b>	<b>NÚMERO DE EVENTOS MUTACIONALES</b>	<b>PORCENTAJE</b>
<b>TOTAL</b>	<b>41</b>	<b>100</b>
MADRE	7	17.07
PADRE	30	73.17
INCONCLUSO	4	9.75

Los resultados coinciden con los hallados por varios investigadores entre ellos Dauber y col en 2012, analizaron 50 796 transferencia meióticas, observaron que del total de mutaciones el 72% provenía de origen paterno y el 17% de origen maternal (Dauber et al., 2012).

Gaviria y col, realizaron un estudio Ecuatoriano de 16 310 pruebas de paternidad, encontraron 523 mutaciones, 80 de origen materno, 357 de origen paterno y 86 de origen inconcluso (Gaviria et al., 2017).

Wojtas y col en 2013, concluyen de igual manera al realizar un estudio en la población del sur de Polonia un total de 26 000 casos de los cuales encontró 35 eventos mutacionales, con más frecuencia mutacional paterna que materna (Wojtas, Piniewska, Polańska, Stawowiak, & Sanak, 2013a).

Maridinni y col en un estudio realizado en Rio Grande de Brasil, analizaron 10 959 casos de paternidad detectaron 355 eventos mutacionales con un promedio de  $1.8 \times 10^{-3}$  /  $0.36 \times 10^{-3}$  entre mutaciones de hombre y mujeres (Mardini et al., 2013a).

Zhao y col en un estudio de la población de Mainland China, determinaron que las mutaciones de origen paternal eran más frecuente que las mutaciones de origen materno (Zhao et al., 2015).

Yatsenko, considera que las altas frecuencia de mutaciones, errores de recombinación, conversiones de genes y daño cromosómica en los hombres se deba a que durante la espermatogénesis, ocurren una gran cantidad de divisiones mitóticas y meióticas; lo que provoca una exposición acumulativa de daño celular y de toxinas ambientales (Yatsenko y Turek, 2018).

Igualmente señala Yatsenko que la maquinaria de replicación mitótica del ADN durante la espermatogénesis es de 600-1000 mitosis durante los primeros 30 años de vida reproductiva, lo que lo hace más propensa a errores y acumulación de mutaciones (Yatsenko y Turek, 2018).

En las mujeres el mecanismo biológico de la ovogénesis es diferente al proceso de espermatogénesis; toda vez que, en aquellas durante la ovogénesis, las ovogonias se multiplican y diferencian en ovocitos primarios, detienen sus multiplicaciones hasta la pubertad; al llegar a esta se reinicia el ciclo de división formándose un ovocito secundario que generará en ovulo (Mejia, 2019).

Además, el proceso de ovogénesis también puede generar mutaciones a nivel cromosómico, sobre todo en las féminas mayores de 35 años, debido al deterioro de la maquinaria meiótica, generando trisomías cromosómicas tales como las aneuploidías en los cromosomas sexuales y/o trisomías en los cromosomas somáticos. Igualmente con el aumento de la edad en las mujeres, se producen mutaciones puntuales, pero son menos frecuentes que en el hombre (Mejía, 2019).

En los hombres los eventos mutacionales se ven aumentados con el aumento de la edad, debido al acumulamiento de fallas en el mecanismo de reparación y el efecto sinérgico en los errores de la replicación del ADN durante la espermatogénesis (Yatsenko y Turek, 2018).

Otros factores propios que influyen en la mutación de un STR, son : el tamaño del alelo, motivos repetidos, sexo, posición del locus en el cromosoma, división celular, y contenido de GC en el ADN, la población de estudio, afectan directamente la tasa de mutación en los loci de la regiones cortas de repetición del ADN.(Bhargava y Fuentes, 2010).

**Edad de los parentales** Durante esta investigación, y basados en el registro de datos de los casos estudiados, se observaron eventos mutacionales en un rango variado de edad de los parentales, al momento del nacimiento de los niños; sin embargo, en ambos parentales, se observan eventos mutacionales y son más

notables estos en edades por encima de los 26 años, situación que es más evidente en los parentales varones (Tabla 2).

**Tabla 5. Rango de Edad de los Parentales y Número de Eventos mutacionales.**

<b>Rango de edad/ eventos mutacionales</b>	<b>Hombres</b>	<b>mujeres</b>	<b>Totales</b>
<b>TOTAL</b>	30	7	37
15-25	6	3	9
26-36	13	3	16
37-47	7	1	8
47-y...+	5	0	5

Los resultados obtenidos son consistentes con los obtenidos por Jónsson y colaboradores, al estudiar 1548 relaciones de consanguinidad de islandeces, encontraron que las mutaciones de *Novo* se incrementan con la edad de los padres (Jónsson et al., 2017).

Halldorsson y colaboradores en el país de Islandia estudiaron 78 relaciones de consanguinidad, sus resultados arrojaron que la tasa de mutación de *Novo*, aumentaba con la edad de los padres (Halldorsson et al., 2016).

Shao y colaboradores, por medio del estudio de STR, analizaron 5846 relaciones de consanguinidad, detectaron que las mutaciones observadas iban en aumento a medida que la edad de los padres se incrementaba(Shao et al., 2016).

Wong y colaboradores, realizaron un estudio en 693 relaciones de consanguinidad, con la finalidad de valorar la influencia de la edad y el sexo en las mutaciones de la descendencia, concluyeron que en efecto las mutaciones en

la descendencia aumentan a medida que aumenta la edad de los padres (Wong et al., 2016).

En la población Danesa, se estudiaron relaciones de consanguinidad de padres-hijo, entre los resultados se encontró que las mutaciones de *Novo*, aumentaban con la edad de los padres (Besenbacher et al., 2015).

Teóricamente las mutaciones heredadas o transmitidas y la consecuente afectación fenotípica o genotípica en la descendencia; están ligadas a muchas causas, entre ellas la edad de los padres, el sexo, la longitud del STR, la presencia de Guanina y Citocinas y su relación, el proceso de recombinación genética; así como el modelo del resbale de la Taq Polimerasa, entre otras.

Brinkmann y colaboradores, aducen que las mutaciones ocurren con mayor frecuencia en edades avanzada de los parentales varones, debido a que la producción fisiológica de los espermatozoides de un individuo de entre 28 a 35 años, ocurren aproximadamente más de 500 divisiones mitóticas, y otras tantas meioticas (durante la espermatogenesis), lo que evidentemente tiene mayor probabilidad de mutación del ADN germinal, convirtiendo así a la edad en un factor determinante en la tasa de mutación de un STR (Hohoff et al., 2006).

**Región geográfica** Se dieron un total de 41 mutaciones germinales, cuyos eventos y proporciones son los siguientes: provincia de Panamá (11 mutaciones, 26.8%), Chiriquí (9 mutaciones, 21,95%) y Bocas del Toro (5 mutaciones, 12.19%), Panamá Oeste (2 mutaciones, 4.87%), Colón y Guna Yala (3 mutaciones 7.31%), Veraguas y Coclé (4 mutaciones, 9.75%), provincias de Herrera (0%) y en Los Santos (1 mutación, 2.43%), (Tabla 6).



**Tabla 6. Distribución geográfica de los Eventos Mutacionales por Provincia o Región Geográfica.**

Provincia o región geográfica	Número de eventos mutacionales	Porcentaje
<b>TOTAL</b>	<b>41</b>	<b>100</b>
Panamá	11	26.8
Chiriquí	9	21.95
Bocas del Toro	5	12.19
Coclé	4	9.75
Veraguas	4	9.75
Colón y Guna Yala	3	7.31
Darién	2	4.87
Panamá Oeste	2	4.87
Los Santos	1	2.43
Herrera	0	0

Nota: Se observa mayor número de eventos mutacionales en las Provincias de Panamá, Chiriquí, Bocas del Toro.

**Tabla 7. Población Estimada por Provincia (censo 2010) y Número de Solicitudes de Pruebas de Determinación de la Relación Filial.**

Provincia	Población estimada (censo, 2010)	Número de solicitudes
<b>Total</b>	<b>3,821,827</b>	<b>1696</b>
Panamá	1,544,185	567
Chiriquí	454,083	259
Bocas del Toro	160,994	82
Coclé	259,322	136
Veraguas	245,284	182
Colón y Guna Yala	324,378	115
Darién	55,055	87
Panamá Oeste	564,901	73
Los Santos	95,291	40

Herrera	118,334	48
Sin Información	-----	100

Relación entre las solicitudes de paternidad/maternidad y población de provincia o región estimada. Fuente: Censo 2010.

Paredes en 2014, al realizar una investigación sobre las tasas de mutación de STR en la república de Colombia, encontró que había regiones geográficas que presentaban un número de mutaciones mayor que otras regiones (Paredes , 2014).

Zhao en 2015, al realizar un estudio de las mutaciones de STR en la China Continental, observó que las cuatro regiones geográficas en las que dividió su región de estudio, presentaban tasas de mutaciones variables.(Zhao et al., 2015). Los resultados obtenidos, están estrechamente relacionados con las solicitudes o demandas provinciales, (Tabla 4), es decir las provincias con mayor demanda de solicitud, resultan las que más eventos mutacionales presentan, además debemos considerar que las mutaciones germinales estudiadas, son de polimorfismos de ADN, es decir que no se expresan fenotípicamente; de manera que no podríamos establecer fehacientemente que el número de mutaciones observadas por provincias o región geográficas, son debido a efectos ambientales o regionales. Sería prudente realizar un estudio de ancestría biomolecular de los individuos que mutaron en esas regiones, por medio de la metodología de secuenciación del ADN Next Generation Sequences (NGS), estudiar factores abióticos que afecten la población de origen de la mutación germinal. Una población de sumo interés para la investigación de la ancestría biomolecular, sería la provincia de Chiriquí, debido al hecho de ser una región agrícola y valorar si la utilización de sustancias agroquímicas como fertilizantes, provoquen mutaciones germinales o somáticas en su población.

Las frecuencias de los alelos estudiados varían entre las poblaciones humanas, por lo que la tendencia es que aquellas poblaciones con una alta frecuencia alélica

presenten una tasa de mutaciones más alta de aquellas poblaciones que presenten una baja frecuencia de alelos. Lo que nos lleva al hecho de que aquellas provincias con frecuencias alélicas altas o bajas, pueden presentar valores altos o bajas de mutaciones, en un mismo marcador.

El segundo objetivo específico que nos planteamos para el desarrollo de esta investigación, fue el de analizar las tasas de mutación de las regiones cortas de repetición STR del ADN en la población panameña, a partir del análisis directo de las transmisiones parentales, en muestras de casos de relación filial (maternidad y/o paternidad).

Este segundo objetivo nos permitió conocer la *Dinámica Mutacional de los STR en la población estudiada*, aspecto de importancia genético poblacional de una región o área en particular y de interés en los cálculos estadísticos necesarios para establecer la vinculación o no de algún individuo en un caso de consanguinidad o casuística criminal. Los aspectos considerados para cumplir este objetivo fueron:

### **Tasa de mutaciones observadas**

Durante los años de estudio, se analizaron un total de 1696 casos de investigación de la relación filial (trio), representativo de 5088 perfiles genéticos de la población panameña; utilizando para ello marcadores genéticos STRs, de tipo tetra nucleótido, y Penta nucleótidos de uso común en los laboratorios forenses dedicados a la investigación Forense y estudios de consanguinidad.

En los marcadores FGA (5) y D18S51(7), se obtuvieron el mayor número de eventos mutacionales, seguidos de los marcadores D5S818(4), vWA (4) y Penta E (3), el resto de los marcadores oscilaron entre 2 eventos mutacionales (D13S317, CSF1PO, D12S391, D21S11, PENTA D, D8S1179) o un evento (TPOX, D2S1338

D6S1043, D3S1358). En los marcadores STR D1S1656, D7S820, D19S433, TH01, no se detectaron eventos mutacionales (Tabla 8).

**Tabla 8. Tasa de Mutación y Número de Eventos Mutacionales por Marcador STR**

<b>Marcador genético (str)</b>	<b>Numero de eventos mutacionales</b>	<b>Tasa de mutación</b>
TOTAL	41	
FGA	5	0,0216
D13S317	2	0,0086
CSF1PO	2	0,0086
D5S818	4	0,0172
D12S391	2	0,0086
TPOX	1	0,0043
D8S1179	2	0,0086
D21S11	2	0,0086
PENTA E	3	0,0129
PENTA D	2	0,0086
D18S51	7	0,0302
VWA	4	0,0172
D16S539	1	0,0043
D2S1338	1	0,0043
D6S1043	1	0,0043
D3S1358	1	0,0043
TH01	n. d	n. d
D1S1656	n. d	n. d
D7S820	n. d	n. d
D19S433	n. d	n. d

Nota: N.d Mutación no detectada en el marcador genético STR.

Los resultados obtenidos en nuestra investigación varían con los obtenidos de otros estudios y entre los mismos marcadores, también se observan resultados disímiles en cuanto al marcador que mayor y/o menor número de eventos mutacionales presenta.

En Brasil se observó que los marcadores vWA y FGA, presentaron alto número de eventos mutacionales, en cambio PENTA E, PENTA D, D21S11, D7S820 y D6S1043, presentaron bajo número de eventos mutacionales, los marcadores D2S1338, TH01, TPOX y D16S539, no presentaron mutaciones. (J. Martinez et al., 2017).

En Turquía se analizaron 13 microsatélite en su población, se identificaron 12 mutaciones en siete microsatelites y ninguna ocurrencia de mutación en los otros seis marcadores, el marcador D8S1179, presentó el número más alto de mutaciones. (Aşicioglu, Oguz-Savran, y Ozbek, 2004).

En Brasil, Río grande Sul, se analizaron 10,959 de pruebas de investigación de la paternidad, se obtuvieron 355 eventos mutacionales, en donde el marcador TH01 y el TPOX, fueron los de menor rango y el de mayor rango mutacional fue el marcador FGA. (Mardini et al., 2013<sup>a</sup>).

En China, se analizaron 3734 relaciones de parentesco, se observaron setenta eventos mutacionales, en donde el marcador con más alto número de eventos mutacionales fue D12S391 y el más bajo fue el marcador D5S818 (Sun et al., 2015).

En el sureste de China, Población de Han, se investigaron 424 000 relaciones de parentesco y el marcador genético con mayor número de eventos mutacionales fue el FGA y el D21S11 (Jin et al., 2016b).

En nuestros resultados las tasas de mutaciones, producto del análisis de marcadores STR de la población panameña, oscilan entre  $4 \times 10^{-3}$  a  $3 \times 10^{-2}$

En países como Han, China la tasa de mutación, utilizando marcadores STR en un estudio de su población oscilo entre 0 a  $4,85 \times 10^{-3}$ . (Hongdan et al., 2017).

En Brasil en un estudio de las tasas de mutación, estimaron que en general la misma oscila en  $1,3 \times 10^{-3}$  (Mardini et al., 2013b).

En Shanghái, China la tasa de mutación de su población se estimó entre 0,00010 y 0,00422.(Li et al., 2011).

En la comunidad de Genética Forense, los STR tienden a clasificarse en: simples, complejos y STR hipervariables; atendiendo a su longitud, secuencia y estructura de unidades de repetición. (Castañeda, 2013).

Los eventos mutacionales en rangos más altos se observaron en STR, de alta complejidad y con motivos de repetición elevados, a saber: FGA y D18S51 respectivamente. En cambio, los STR de estructura simple, en su gran mayoría, presentaron eventos mutacionales en rangos bajos (Tabla 9).

**TABLA 9. Rangos de Número de Eventos de Mutación, Según Marcador.**

Rango bajo	Rango medio	Rango alto
1-2	3-4	5-6
D16S539	PENTA E	FGA
D2S1338	D5S818	D18S51
D6S1043	VWA	
D3S1358		
TPOX		

**D13S317**

**CSF1PO**

**D12S391**

**PENTA D**

**D8S1179**

Entre los factores que influyen en los eventos mutacionales de los marcadores STR, tenemos el número de repeticiones de éste, lo que advierte que la tasa de mutación aumenta en alelos más largos. (Brinkmann, Klintschar, Neuhuber, Hühne, y Rolf, 1998).

La probabilidad de que ocurra un cambio en una molécula en un microsatelite está íntimamente relacionada con la longitud de las unidades de repetición, y la estructura de este, por lo que los alelos que presentan una mayor cantidad de repeticiones, se espera que muten mucho más que aquellos que no. (Castañeda, 2013).

La Tasa de Mutación y/o número de eventos mutacionales, observadas en un marcador STR, guarda estrecha relación con factores muy propios del mismo; tales como: el número de repeticiones, su ubicación en el cromosoma, el sexo, la población en estudio, la edad, longitud del marcador, en este último punto es loable mencionar que la probabilidad de que la enzima se “resbale”, aumenta con el largo del marcador y aumenta igualmente la probabilidad de mayor número de mutaciones (Bhargava y Fuentes, 2010).

### **Mecanismo biomolecular del evento mutacional (deslizamiento / null).**

Durante los años de estudio, se analizaron un total de 1696 casos de investigación de la relación filial (trio), representativo de 5088 perfiles genéticos de la población

panameña; utilizando para ello marcadores genéticos STRs, de tipo tetra nucleótido, y Penta nucleótidos de uso común en los laboratorios forenses dedicados a la investigación Criminal Forense y estudios de consanguinidad.

Durante esta investigación se detectaron 41 eventos mutacionales, de los cuales solamente dos 2 (4.87%) eventos presentaron exclusión de segundo orden, en este tipo de exclusión tanto el padre como hijo presentan homocigosis alélica diferentes. Por ejemplo, en un marcador en particular el padre tiene los alelos 14/14 y el hijo los alelos 15/15.

Dos 2 eventos (4.87%) mutacional, resultó ser evento en donde no se pudo determinar el mecanismo molecular de mutación; toda vez que la asignación de la mutación molecular se pudiera atribuir tanto al padre como a la madre. Por ejemplo, en un marcador particular, donde la madre presenta los alelos 10/11, el padre los alelos 12/12 y el hijo los alelos 13/13. En este tipo de situación, se pudiera considerar una mutación de origen materna del alelo 11, por ganancia de dos repeticiones en el hijo; sin embargo, de igual se puede considerar una mutación de nulidad entre el padre y el hijo.

El resto de los eventos mutacionales, es decir 37 (90.24%), son eventos mutacionales, tipo deslizamiento.

### **Relación entre la ganancia y/o pérdida de repetición**

Como se mencionó en párrafos precedente, se obtuvieron un total de 41 eventos mutacionales del tipo deslizamiento y de estos se determinó que 15 eventos (36.58%), ocurrieron por pérdida de repeticiones, 25 (60%) eventos se dieron por ganancia de repeticiones y un (1) evento no fue posible determinar si fue por pérdida o ganancia de repetición. El 95% de las mutaciones observadas son de un solo paso y el 5% son de dos pasos.



En un estudio realizado en la población de São Paulo, sureste de Brasil, se encontraron 35 mutaciones STR, en 18 locus o marcadores, de los cuales 17 fueron de ganancia de unidades de repeticiones, 11 de pérdida de repeticiones y siete no se pudo determinar si eran de pérdida o ganancia de unidades de repetición (Martinez, Braganholi, Ambrósio, Polverari, y Cicarelli, 2017).

En el sur de Polonia, se realizó una investigación sobre mutaciones de STR, encontrándose que el 97 % de ellas correspondían con repeticiones de ganancia o pérdida de un unidad de repetición (Wojtas, Piniewska, Polańska, Stawowiak, & Sanak, 2013b)

En la población alemana, en cambio se obtuvieron 16 inconsistencias, de las cuales 12 eran mutaciones de pérdida o ganancia de repeticiones de un solo paso. (Becker et al., 2007).

En una población de Guangdong Han China, se obtuvieron 322 eventos mutacionales de los que 315, resultaron ser por pérdida de un solo paso; cinco de dos pasos y dos de tres pasos de repetición. (Xiao et al., 2018).

Los resultados obtenidos, confirman el Modelo Mutacional de que la mayoría de las mutaciones de STR, se deben a desplazamiento de la taq polimerasa, durante la replicación de la molécula de ADN. (Dauber et al., 2012).

Esta pérdida o ganancia de unidades de repetición, es debido a los mecanismos de deslizamiento de la enzima polimerasa, los productos más comunes de este deslizamiento, se detecta frecuentemente al observar las inserciones o deleciones de una unidad de repetición. Entre  $10^{-3}$  a  $10^{-1}$ , es usualmente la tasa de mutación de los microsatelites autosómicos y del Cromosoma Y (Castañeda, 2013).

## Utilidad de la Tasa de mutación y cálculo del Índice de Paternidad (IP o LR) en investigaciones Forenses.

La National Institute Estándar and Technology (NIST), en lista varios programas estadísticos que permite estimar el índice de Paternidad (IP), Probabilidad de Paternidad/consanguinidad o Like ratio (LR) de la relación de consanguinidad y/o relación matemática entre los perfiles involucrados en un proceso Penal. <https://strbase.nist.gov/kinship.htm>.

Tomando en consideración las leyes de la probabilidad y el hecho de que el índice de Paternidad de cada marcador, son eventos al azar e independientes; la Probabilidad de Consanguinidad sería, el producto de todos los eventos IP independientes de cada marcador.

Utilizando el Teorema de Bayes, el programa estadístico Genética Forense Final (GFFv.3.0.0), asumiendo que en un panel de las 21 regiones de STR, todos los alelos coinciden, menos en un marcador, por efecto de la Leyes de la Probabilidad, se obtendría un IP de 0.00 y un W=0%, lo que implica una exclusión de la relación de consanguinidad en una investigación de la paternidad filial o un caso de investigación penal.

**Tabla 10. Mutación en el Marcador STR - FGA**

MARCADOR ALÉLICO	MADRE	HIJO	SUPUESTO PADRE	IP
FGA	42-44	21-44	20-23	0.00000

En el ejemplo citado, se observa en el marcador, una mutación del padre (20) al hijo (21) de una ganancia (+1).

En los Laboratorios Forenses y de estudio de la relación de consanguinidad, se establece que con un IP de 10 000 y un W: 99.99%, la Paternidad está plenamente

comprobada. Además de que al observar uno o dos marcadores que propician la inconsistencia de la paternidad, se debe prestar atención a dichos marcadores y verificar si se trata o no de una mutación, tal cual es nuestro ejemplo.

Una vez detectada la mutación, se debe realizar la corrección estadística correspondiente, utilizando para ello el siguiente algoritmo:

IP TOTAL (corregido):  $x/y * w$

X: **tasa de mutación** del marcador en la población.

Y: Poder de Exclusión del marcador en la población estudiada.

W: Porcentaje de paternidad obtenido.

La corrección del cálculo estadístico, con la utilización de la Tasa de Mutación de nuestra población (Tabla No.8), permitirá obtener un IP y un valor de W, corregido y real, por el hecho de tratarse de una inconsistencia producto de una mutación del marcador genético.

De no contar con el valor de la tasa mutación de la población particular, para el marcador en particular, se tendría que utilizar una tasa de mutación de un país referenciado o el que proporciona la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y el valor de Paternidad obtenido, no sería cónsono con la realidad, lo que pudiera originar, en un caso de investigación de la paternidad/maternidad en un caso penal o civil, una exclusión de Paternidad, sin serlo.

**El Objetivo general**, de esta investigación consistió en Analizar los eventos mutacionales de las regiones cortas de repetición (STR) del ADN de la población panameña, caracterizando su comportamiento molecular, su impacto en situaciones de interés forense, relaciones de parentesco y aspectos demogenético-poblacionales.

Para darle respuesta al objetivo general desarrollamos los objetivos específicos, tratados en párrafos precedentes, en función de ello planteamos que el **comportamiento biomolecular** de los STR s en la población panameña, en cuanto al número de eventos mutacionales por marcador STRS, es el siguiente FGA (5) y D18S51(7), se obtuvieron n cuanto al el mayor número de eventos mutacionales, seguidos de los marcadores D5S818(4), VWA(4) y Penta E(3), el resto de los marcadores oscilaron entre 2 eventos mutacionales (D13S317, CSF1PO, D12S391, D21S11, PENTA D, D8S1179) o un evento (TPOX, D2S1338 D6S1043, D3S1358). En los marcadores STR D1S1656, D7S820, D19S433, TH01, no se detectaron eventos mutacionales (Tabla 8).

Los eventos mutacionales en rangos más altos se observaron en STR, de alta complejidad y con motivos de repetición elevados, a saber: FGA y D18S51 respectivamente. En cambio, los STR de estructura simple, en su gran mayoría, presentaron eventos mutacionales en rangos bajos (Tabla 9).

De las cuarenta 41 mutaciones detectadas en esta investigación, el 90.24%, son eventos mutacionales, tipo deslizamiento; 4.87% eventos presentaron exclusión de segundo orden, e igual porcentaje de eventos resultó ser evento en donde no se pudo determinar el mecanismo molecular de mutación.

El 36.58% de los eventos mutacionales, ocurrieron por pérdida de repeticiones, 60% eventos se dieron por ganancia de repeticiones y en 0.4% de evento no fue posible determinar si fue por pérdida o ganancia de repetición. El 95% de las mutaciones observadas son de un solo paso y el 5% son de dos pasos.

En cuanto al estudio de los STRs en nuestra población y su **impacto en situaciones de interés forense y relaciones de parentesco**; ante un caso en donde se calcule el índice de Paternidad y donde en el panel de STRs analizados, se presente una o dos inconsistencias(mutaciones), requerirá la corrección del

cálculo estadístico, con la utilización de la Tasa de Mutación de nuestra población (Tabla No.8), y esto permitirá obtener un IP y un valor de W, corregido y real, por el hecho de tratarse de una inconsistencia producto de una mutación del marcador genético.

De no contar con el valor de la tasa mutación de la población particular, para el marcador en particular, se tendría que utilizar una tasa de mutación de un país referenciado o el que proporciona la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y el valor de Paternidad obtenido, no sería consonó con la realidad, lo que pudiera originar, en un caso de investigación de la paternidad/maternidad en un caso penal o civil, una exclusión de Paternidad, sin serlo.

En lo señalado en párrafo anterior, estriba la importancia de que nuestro país cuente con su propia Tasa de Mutación STRs.

Los **aspectos demogenético-poblacionales** se establecieron al estudiar los aspectos siguientes:

**Origen parental:** El 73.17% de las mutaciones, se originaron en el padre y el 17.07% se originaron en la madre y en el 9.75%, no fue posible determinar el origen parental (Tabla 1).

La relación paterna-materna, con respecto al origen del número de eventos mutacionales fue de 4:1

**Edad de los parentales** en ambos parentales, se observan eventos mutacionales y son más notables estos en edades por encima de los 26 años, situación que es más evidente en los parentales varones (Tabla No.2).

**Región geográfica:** los eventos mutacionales por provincia se dieron en el siguiente orden: Panamá (11 mutaciones, 26.8%), Chiriquí (9 mutaciones, 21,95%) y Bocas del Toro (5 mutaciones, 12.19%), Panamá Oeste (2 mutaciones,

4.87%), Colón y Guna Yala (3 mutaciones 7.31%), Veraguas y Coclé (4 mutaciones, 9.75%), provincias de Herrera (0%) y en Los Santos (1 mutación, 2.43%). Tabla 3.

Como **pregunta de investigación** nos planteamos:

¿Existe relación entre el número de mutación del ADN (STRs) en la población panameña y aspectos poblacionales como género, edad paternal, edad maternal y origen geográfico?

Luego del análisis previo podemos responder a nuestra pregunta de investigación indicando que

- No existe evidencia científica estadística para determinar que existe relación entre el número de eventos mutacionales y el origen geográfico, ello a pesar de que se observa mayor proporción de número de eventos mutacionales en unas provincias que en otras.
- Con respecto a la relación entre el número de eventos mutacionales y aspectos poblacionales como Edad y origen paternal. Nuestros resultados estadísticos, permiten establecer que si existe dicha relación.
- Existe mayor número de mutaciones de origen paterno que de origen materno; además de que, a mayor edad de los padres, mayor número de eventos mutacionales se observa.

## CONCLUSIONES

- No existe evidencia científica-estadística para determinar que existe relación entre el número de eventos mutacionales y el área geográfica, ello a pesar de que se observa mayor proporción de número de eventos mutacionales en unas provincias más que en otras. (ver Tabla 6, página 65).
- La Tasa de mutación del ADN STR de la población panameña oscila entre  $4 \times 10^{-3}$  a  $3 \times 10^{-2}$ , lo que refleja una baja Tasa de Mutación, teóricamente sustentada por Ye et al. 2017; Bhargava 2010; Ye et al. 2017; Junge 2006; Ellegren 2016; Becker et al. 2007; Vázquez 2014; Leclercq 2010 (ver Tabla 8, página 68).
- Existe relación entre el número de eventos mutacionales y aspectos sociodemográficos como Edad y el género; conclusión que coincide con los planteamientos teóricos de Shao et al. 2016, Rahbari et al. 2016, Goldmann et al., 2016, quienes argumentan que las mutaciones de STR, se ven afectada por factores como. la edad, el género, el país. (página 60).
- Se observan mayor número de eventos mutacionales de origen paterno que de origen materno, en una proporción de 4:1. Conclusión sustentada teóricamente por Maher et al., 2016, quien indica que debido a que los ciclos mitóticos y meiótico, son más frecuentes en la espermatogénesis que en la ovogénesis, lo que es más propenso que ocurran más mutaciones en hombres que en mujeres.
-

- Las Tasas de mutación (tanto en los padres como en las madres), aumenta a medida que los mismos avanzan en edad. Sin embargo, en los hombres este patrón es más evidente. En el 9,75% no fue posible determinar el origen paternal de la mutación. (ver Tabla 4, página 60). Esta conclusión se teoriza por Hohoff, 2006, quien indica que la replicación celular espermatocítica, es mayor en individuos de mayor edad, por lo que su tasa de mutación es mayor.
- De los casos de mutaciones estudiadas el 90,24%, presentan un mecanismo mutacional teórico tipo deslizamiento de la Taq polimerasa, solamente se observaron que 4,87 % tiene un mecanismo mutacional nulo o silente. En el 4,87% no fue posible determinar el mecanismo mutacional. Los teóricos de las mutaciones de STR, plantean que el modelo de deslizamiento ocurre durante la síntesis de ADN; y es para ellos el modelo que mejor explica el origen de las Mutaciones STR. (ver página 76).
- Se estimaron las Tasas de Mutación de los STR, aplicables a la población panameña para poder ser utilizados en la genética Forense, en los casos de consanguinidad y estudios de casuística criminal. (Tabla 8, página 68).
- En los marcadores FGA (5) y D18S51 (7), se obtuvieron el mayor número de eventos mutacionales, seguidos de los marcadores D5S818 (4), vWA (4) y Penta E (3), el resto de los marcadores oscilaron entre 2 eventos mutacionales (D13S317, CSF1PO, D12S391, D21S11, PENTA D, D8S1179) o un evento (TPOX, D2S1338 D6S1043, D3S1358). En los marcadores STR D1S1656, D7S820, D19S433, TH01, no se detectaron eventos mutacionales. (ver Tabla 9, página 70).
- El 95% de las mutaciones observadas son de un solo paso y el 5% son de dos pasos. El 60% de las mutaciones observadas son por ganancia alélica



y 36,58 % por pérdida alélica. Esta conclusión se sustenta en el modelo SMM, modelo de mutación STR de un solo paso; y es el modelo más común que acontece en las mutaciones STR (ver página 76).

## RECOMENDACIONES Y LIMITACIONES

### **Limitaciones:**

La falta de información de estudios o investigaciones recientes, realizadas en Panamá, que hagan referencia a marcadores moleculares del ADN en general y de los STR (Regiones Cortas de Repetición) en particular, que nos permitiera en un momento dado, observar tendencias, valoraciones significativas o de correlación.

Limitación comprensible, dado el hecho de que son investigaciones que requieren de equipos, datos y registros poblacionales, reactivos e insumo de alto coste; aunado a la poca disposición de muestras biológicas que permitan estudios de carácter genético poblacional.

### **Recomendaciones:**

El acervo genético de la especie humana y de la población panameña en particular es accesible mediante el estudio de los marcadores genéticos proporcionado por la genética y la biología molecular. Mediante esta investigación nos acercamos, al estudio de las mutaciones y su relación con factores poblacionales como Edad, Sexo, Región geográfica, información de importancia en aspectos de consanguinidad, casuística criminal y aspectos genéticos poblacionales. Para la profundización de esta investigación recomendamos:

- Las Tasas de Mutación de los ADN-STR, obtenidos durante esta investigación, deben ser tomados en cuenta en aquellos casos de casuística criminal y/o casos de consanguinidad que presente alguna

mutación y requieran por lo tanto determinar el índice de Probabilidad corregido y tener un valor probabilístico de coincidencia real.

- Secuenciar mediante la técnica NGS (Next Generation Secuencias) el ADN-STR de las mutaciones que dieron como resultados inconsistencias, de manera que se sepa el o los motivos de repetición de las variables alélicas, concentraciones de Bases Nitrogenadas en esas regiones, los pares de bases que lo conforman; información que nos permitirá comprobar con técnicas de última generación los resultados obtenidos.
- Valorar si las mutaciones germinales, encontradas en esta investigación, representan variables alélicas propias de nuestra población y/o si las mismas se encuentran presentes en otras poblaciones de la región: información de importancia genético poblacional.
- Sería prudente realizar un estudio de ancestría Biomolecular y/o marcadores de ligamento de los individuos que presentaron mutación germinal y determinar si las mismas son originadas por factores abióticos, tomando en consideración el hecho de que algunas de ellas provienen de individuos de provincias caracterizadas por el uso de sustancias agroquímicas o fertilizantes mutagénicos.
- Realizar un estudio de mutaciones de los STR del Cromosoma Y, información que tiene validez e importancia para casos de casuística criminal e importancia genético poblacional.
- La información obtenida durante esta investigación con respecto a los casos de Paternidad responsable, la importancia de la identificación Humana, en casos de casuística Forense y casos de relación filial; constituye material de insumo para fortalecer la discusión e incorporación

a los programas académicos del Ministerio de Educación y Universidades, la temática de la Educación sexual responsable.

- Realizar un estudio de la Dinámica Social de los casos de Pruebas de Relación consanguínea, en la Población panameña, que nos permita visibilizar aspectos sociales, como (Edad de los solicitantes, región geográfica, país de procedencia, estado civil de los involucrados, edad del menor, entre otros parámetros o variables.
- Valorar los resultados de esta investigación en cuyos casos la mutación germinal, es de origen paterno y la descendencia es un individuo del sexo masculino; tomar dichas muestras obtener el perfil genético de STR del cromosoma Y, y corroborar si en este cromosoma presenta mutación alguna, tal cual se dio en el ADN STR-autosómico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achill y colaboradores. (2012). Descifrando el genoma panameño. [Www.Biomuseo.Com](http://www.biomuseo.com). Retrieved from [www.biomuseo.com](http://www.biomuseo.com)
- Antonio Checa Caratachea, M. (2007). Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Mex Vol 20-Num 3 Julio-Septiembre 2007 Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. [www.iner.gob.mx](http://www.iner.gob.mx)
- Avila, L. (25 de agosto de 2018). Cuatro de cada 10 pruebas de paternidad tienen resultados negativos. El Panamamerica. Recuperado de <https://www.panamaamerica.com.pa/tema-del-dia/cuatro-de-cada-10-ruebas-de-paternidad-tienen-resultados-negativos-105722>
- Aranguren-Méndez, J. Román-Bravo, R., Isea, W., Villasmil, Y., & Jordana, J. (2005). Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión Microsatellites (STR's), A review. In Arch. Latinoam. Prod. Anim (Vol. 13)
- Aşicioglu, F., Oguz-Savran, F., & Ozbek, U. (2004). Mutation rate at commonly used forensic STR loci: paternity testing experience. *Disease Markers*, 20(6), 313–315. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3839336&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Barbadilla, A. (2020). Genética de Poblaciones, Antonio Barbadilla, UAB. Retrieved March 25, 2020, from <http://bioinformatica.uab.es/divulgacio/genpob.html>
- Beas, C., Ortuño, D., & Armendariz, J. (2009). *Biología Molecular. Fundamentos y Aplicaciones 1ra ed.*. Mexico: McGraw Hill Intearmericna Editores, S.A. de C.V. A.
- Becker, D., Bender, K., Edelman, J., Götz, F., Henke, L., Hering, S., ... Brabetz,

- W. (2007). New alleles and mutational events at 14 STR loci from different German populations. *Forensic Science International: Genetics*, 1(3–4), 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2007.04.001>
- Bekada, A., Fregel, R., Cabrera, V. M., Larruga, J. M., Pestano, J., Benhamamouch, S., & González, A. M. (2013). Introducing the Algerian Mitochondrial DNA and Y-Chromosome Profiles into the North African Landscape. *PLoS ONE*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056775>
- Benavides, F. J., & Guénet, J.-L. (2012). *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio. Principios básicos y aplicaciones.*
- Besenbacher, S., Liu, S., Izarzugaza, J. M. G., Grove, J., Belling, K., Bork-Jensen, J., ... Rasmussen, S. (2015). Novel variation and de novo mutation rates in population-wide de novo assembled Danish trios. *Nature Communications*, 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms6969>
- Bhargava, A., & Fuentes, F. F. (2010). Mutational dynamics of microsatellites. *Molecular Biotechnology*, 44(3), 250–266. <https://doi.org/10.1007/s12033-009-9230-4>
- Brinkmann, B., Klintschar, M., Neuhuber, F., Hühne, J., & Rolf, B. (1998). Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. *American Journal of Human Genetics*, 62, 1408–1415. <https://doi.org/10.1086/301869>
- Butler, J. M. (2015). Advanced Topics In FORENSIC DNA TYPING: INTERPRETATION. In *Advanced Topics in Forensic DNA Typing.* <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Carracedo, Á., Butler, J. M., Gusmão, L., Linacre, A., Parson, W., Roewer, L., & Schneider, P. M. (2013). New guidelines for the publication of genetic population data. *Forensic Science International: Genetics*, 7(2), 217–220. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.01.001>

- Castañeda Fernandez, M. (2013). Estudio de los microsatélites y miniSTRs del cromosoma X de aplicación forense. 1–172. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2005.07.001>
- CORNEJO, A. (2014). *Herramientas Moleculares Aplicadas Ecología*. Mexico: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I).
- Corporation, P. (2017). PowerPlex® 21 System for Use on the Applied Biosystems Genetic Analyzers. Retrieved from <https://www.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/101/powerplex-21-system-protocol.pdf>
- Cw, R., & De, T. (2018). Analysis of 30 INDEL Polymorphic Markers in the Panamanian Population : Gene Admixture Estimates , Population Structure and Forensic Parameters. 9, 1–8. <https://doi.org/10.4172/2157-7145.1000413>, 1–8. <https://doi.org/10.4172/2157-7145.1000413>
- Dauber, E.-M., Kratzer, A., Neuhuber, F., Parson, W., Klintschar, M., Bär, W., & Mayr, W. R. (2012). Germline mutations of STR-alleles include multi-step mutations as defined by sequencing of repeat and flanking regions. *Forensic Science International: Genetics*, 6(3), 381–386. <https://doi.org/10.1016/J.FSIGEN.2011.07.015>
- Demarchi, D. A. (2009). *icrosatélites, Distancias Genéticas y Estructura de Poblaciones Nativas Sudamericanas*. *Revista Argentina de Antropología Biológica*.(Vol. 11).
- Drożdżiok, K., Kabiesz, J., Tomsia, M., Skowronek, R., & Rębała, K. (2018). Mutation analysis of short tandem repeats in a population sample from Upper Silesia (southern Poland). *Legal Medicine*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2018.03.010>
- Ellegren, H., & Galtier, N. (2016). Determinants of genetic diversity. *Nature*

Reviews Genetics, Vol. 17. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.58>

Feingold, E. A., Good, P. J., Guyer, M. S., Kamholz, S., Liefer, L., Wetterstrand, K., ... Harvey, S. C. (2004). The ENCODE (ENCyclopedia of DNA Elements) Project. *Science*, 306(5696), 636–640. <https://doi.org/10.1126/science.1105136>

Fidias, A. (2012). Introduccion a la Metodologia Cientifica. In [ثبثبثب](https://doi.org/10.1126/science.1105136). Retrieved from <https://evidencia.com/wp-content/uploads/2014/12/EL-Proyecto-de-Investigación-6ta-ed.-fidias-g.-arias.pdf>

Gaibar, M. (2011). Diversidad Genética en Poblaciones del Centro de Marruecos y Sur de España: Análisis de Polimorfismos STRs Autosómicos y del Cromosoma Y Programa. Universidad Europea de Madrid Programa de Doctorado en Biomedicina y Ciencias de la Salud Facultad de CC Biomédicas.

Gaviria, A., Vela, M., Fiallos, G., Gruezo, C., Cobos, S., Builes, J. J., & Zambrano, A. K. (2017). Mutation rates for 29 short tandem repeat loci from the Ecuadorian population. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.103>

Goldmann, J. M., Wong, W. S. W., Pinelli, M., Farrah, T., Bodian, D., Stittrich, A. B., ... Niederhuber, J. E. (2016). Parent-of-origin-specific signatures of de novo mutations. *Nature Genetics*. <https://doi.org/10.1038/ng.3597>

González-Andrade, F., Sánchez, D., & Martínez-Jarreta, B. (2015). Análisis de 2.758 casos de paternidad resueltos con polimorfismos str-pcr en ecuador. *Ciencia Forense*, 7/2005: 205-216 ANÁLISIS.

González, E. (2003). Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Revista Científicas Del CSIC*, 59, 377–388. <https://doi.org/10.3989/graellsia.2003.v59.i2-3.253>

Greeff, J. M., & Erasmus, J. C. (2015). Three hundred years of low non-paternity



- in a human population. *Heredity*, 115(5). <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.36>
- Hadi Çakır, A., Şimşek, F., Katırcı, N., & Taşdelen, B. (2004). STR data for the AmpFISTR SGM Plus from the eastern and western sections of Mediterranean region of Turkey. *Forensic Science International*. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.02.021>
- Halldorsson, B. V., Hardarson, M. T., Kehr, B., Styrkarsdottir, U., Gylfason, A., Thorleifsson, G., ... Stefansson, K. (2016). The rate of meiotic gene conversion varies by sex and age. *Nature Genetics*, 48(11), 1377–1384. <https://doi.org/10.1038/ng.3669>
- Hernández-Rodríguez, A. W., & Trejo-Medinilla, F. de M. (2014). Estudio genético poblacional de frecuencias alélicas para 15 marcadores str presentes en la población del estado de zacatecas aplicado a la práctica forense. *Archivos de Medicina*. <https://doi.org/10.3823/1209>
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (1997). *Metodología de la investigación* (2da ed.). Mexico: McGRAW - HILL INTERAMERICANA DE MÉXICO, S.A. de C.V. Atlacomulco.
- Herrera Paz, E. F. (2013). La genética de poblaciones y el origen de la diversidad humana. *Rev Med Hondur*.
- Hohoff, C., Schürenkamp, M., Borchers, T., Eppink, M., & Brinkmann, B. (2006). Meiosis study in a population sample from Afghanistan: Allele frequencies and mutation rates of 16 STR loci. *International Journal of Legal Medicine*, 120(5), 300–302. <https://doi.org/10.1007/s00414-006-0091->
- Hongdan, W., Bing, K., Ning, S., Miao, H., Bo, Z., Yuxin, G., ... Zhaoshu, Z. (2017, January 1). Evaluation of the genetic parameters and mutation analysis of 22 STR loci in the central Chinese Han population. *International Journal of Legal Medicine*, Vol. 131, pp. 103–105. <https://doi.org/10.1007/s00414-016-1389->

- Jin, B., Su, Q., Luo, H., Li, Y., Wu, J., Yan, J., ... Zhang, L. (2016a). Mutational analysis of 33 autosomal short tandem repeat (STR) loci in southwest Chinese Han population based on trio parentage testing. *Forensic Science International: Genetics*, 23, 86–90. <https://doi.org/10.1016/J.FSIGEN.2016.03.009>
- Jin, B., Su, Q., Luo, H., Li, Y., Wu, J., Yan, J., ... Zhang, L. (2016b). Mutational analysis of 33 autosomal short tandem repeat (STR) loci in southwest Chinese Han population based on trio parentage testing. *Forensic Science International: Genetics*. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.03.009>
- Jónsson, H., Sulem, P., Kehr, B., Kristmundsdóttir, S., Zink, F., Hjartarson, E., ... Stefansson, K. (2017). Parental influence on human germline de novo mutations in 1,548 trios from Iceland. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature24018>
- Junge, A., Brinkmann, B., Fimmers, R., & Madea, B. (2006). Mutations or exclusion: An unusual case in paternity testing. *International Journal of Legal Medicine*. <https://doi.org/10.1007/s00414-005-0045-y>
- Klug, W. (2006). *Conceptos de Genética (Tercera Ed)*. España: pearson prentice hall.
- Kumar, R. (2011). *research methodology (3ra ed.)*. Retrieved from [www.sagepublications.com](http://www.sagepublications.com)
- Leclercq, S. B., Rivals, E., & Jarne, P. (2010). DNA slippage occurs at microsatellite loci without minimal threshold length in humans: A comparative genomic approach. *Genome Biology and Evolution*, 2(1), 325–335. <https://doi.org/10.1093/gbe/evq023>
- Lewin, B. (2008). *Genes IX (novena; McGrawHill, Ed.)*. Mexico.
- Li, H. X., Tong, D. Y., Lu, H. L., Ou, X. L., Chen, W. J., Zhang, Y. M., ... Sun, H. Y. (2011). Mutation analysis of 24 autosomal STR loci using in paternity

testing. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 3(1), e159–e160. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2011.08.080>

Life Technologies Corporation. (2015). *AmpF I STR® Identifiler® Plus PCR Amplification Kit User Guide*. Applied Biosystems Life Technologies, F(4440211), 1–148. Retrieved from [https://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/cms\\_076395.pdf](https://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/cms_076395.pdf)

Lisker, R., Zentella, A., & Grether, P. (2013). *Introducción a la genética humana (tercera; El Manual Moderno s.a c.v, Ed.)*. colombia.

Loeb, S., Dynarski, S., McFarland, D., Morris, P., Reardon, S., & Reber, S. (2017). *Descriptive Analysis in Education: A Guide for Researchers*. U.S. Department of Education, Institute of Education Sciences. National Center for Education Evaluation and Regional Assistance, (March), 1–40. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.5.550>

Luque, J., & Herraéz, A. (2002). *Biología Molecular e Ingeniería Genética (primera; U. de Alcalá, Ed.)*. España: Elsevier Ltd.

Maher, G. J., McGowan, S. J., Giannoulatou, E., Verrill, C., Goriely, A., & Wilkie, A. O. M. (2016). Visualizing the origins of selfish de novo mutations in individual seminiferous tubules of human testes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(9). <https://doi.org/10.1073/pnas.1521325113>

Mardini, A. C., Rodenbusch, R., Schumacher, S., Chula, F. G. L., Michelon, C. T., Gastaldo, A. Z., ... Da Silva, C. M. D. (2013a). Mutation rate estimates for 13 STR loci in a large population from Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *International Journal of Legal Medicine*, 127(1), 45–47. <https://doi.org/10.1007/s00414-011-0642-x>

Mardini, A. C., Rodenbusch, R., Schumacher, S., Chula, F. G. L., Michelon, C. T., Gastaldo, A. Z., ... Da Silva, C. M. D. (2013b). Mutation rate estimates for 13 STR loci in a large population from Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *International Journal of Legal Medicine*, 127(1), 45–47.

<https://doi.org/10.1007/s00414-011-0642-x>

- Martinez, B., Catelli, L., Romero, M., Okolie, V. O., Keshinro, S. O., Carvalho, E. F., ... Gusmão, L. (2017). Forensic evaluation of 27 y-str haplotypes in a population sample from nigeria. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6(September), e289–e291. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.138>
- Martinez, J., Braganholi, D. F., Ambrósio, I. B., Polverari, F. S., & Cicarelli, R. M. B. (2017). Mutation rates for 20 STR loci in a population from São Paulo state, Southeast, Brazil. *Annals of Human Biology*. <https://doi.org/10.1080/03014460.2017.1371222>
- Mejia, ruben. (2019). Cómo afecta tu edad a tus gametos Espermatogénesis. *Genotipia*, 1–7. Retrieved from [https://genotipia.com/edad-gametos/Ministerio de Salud de Panamá. \(2016\). Política Nacional de Salud 2016 - 2025. 194–195.](https://genotipia.com/edad-gametos/Ministerio de Salud de Panamá. (2016). Política Nacional de Salud 2016 - 2025. 194–195.)
- Monje Álvarez, C. A. (2011). Metodología de la investigación cuantitativa y cualitativa. *Guía didáctica*. Universidad Surcolombiana, 1–216. Retrieved from <http://carmonje.wikispaces.com/file/view/Monje+Carlos+Arturo+-+Guía+didáctica+Metodología+de+la+investigación.pdf>
- Núñez-C, M. I., Arias, T., Rigg, C., Ramos, C., & Miller, M. J. (2009). Allele frequency distributions of nine loci STRS in panamanian “mestizos.”
- Nussbaum, R., & McInnes, R. . (2012). *Genética en Medicina (SEPTIMA; T. & Thompson, Ed.)*. Elsevier Masson.
- Octavio-Aguilar, P., & Ramos-Frías, J. (2013). Aplicación de la genética de poblaciones en el ámbito de la medicina. *Biomédica*, 34(2). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.1540>
- Orengo, D. (2013). *Fundamentos de Biología Molecular*. España: Editorial UOC, de esta edición Rambla del Poblenou 156, 08018 Barcelona

www.editorialuoc.com.

Pachar, J. (2020). Boletín Estadístico del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Panamá. BOLETIN-ESTADISTICO-ANUAL-2020.pdf (imelcf.gob.pa)

Para, Q., El, O., De, T., Farmacéutico, Q., Presenta, B., & Flores, E. R. (2014). Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza & Quot; Análisis Genético de 22 Loci STR en la Población de la Ciudad de México & Quot; T E S I S. Retrieved from [https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wpontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis\\_ramirez\\_flores.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wpontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_ramirez_flores.pdf)

Paredes López, M. (2014). Análisis Mutacional de Microsatélites Humanos Implicaciones Evolutivas, Poblacionales y Forenses.

Perez, E. C., & Barrantes, R. (2002). [Racial mix of the panamanian population]. Revista Medica de Panama, 27(February), 5–17. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/7046090> [Racial mix of the panamanian population]%0A

Promega, C. (2016). PowerPlex® 16 System.

REAL ACADEMIA ESPAÑOLA: Diccionario de la lengua española, 23.<sup>a</sup> ed., [versión 23.5 en línea]. <<https://dle.rae.es>> [22 de diciembre 2021].

Rahbari, R., Wuster, A., Lindsay, S. J., Hardwick, R. J., Alexandrov, L. B., Al Turki, S., ... Hurles, M. E. (2016). Timing, rates and spectra of human germline mutation. Nature Genetics. <https://doi.org/10.1038/ng.3469>

Sánchez. J. (12 de agosto de 2003) Se incrementan solicitudes de trámite sobre paternidad en el Registro Civil. Recuperado de <https://www.panamaamerica.com.pa/nacion/se-incrementan-solicitudes-de-ramite-sobre-paternidad-en-el-registro-civil-137348>

Shao, C., Lin, M., Zhou, Z., Zhou, Y., Shen, Y., Xue, A., ... Xie, J. (2016). Mutation

- analysis of 19 autosomal short tandem repeats in Chinese Han population from Shanghai. *International Journal of Legal Medicine*, 130(6), 1439–1444.  
<https://doi.org/10.1007/s00414-016-1427-z>
- Shao, C., Zhang, Y., Zhou, Y., Zhu, W., Xu, H., Liu, Z., ... Xie, J. (2015). Identification and characterization of the highly polymorphic locus D14S739 in the Han Chinese population. *Croatian Medical Journal*, 56(5).  
<https://doi.org/10.3325/cmj.2015.56.482>
- Smith, T. C. A., Arndt, P. F., & Eyre-Walker, A. (2018). Large scale variation in the rate of germ-line de novo mutation, base composition, divergence and diversity in humans. *PLoS Genetics*, 14(3).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007254>
- Sun, M., Zhang, X., Wu, D., Shen, Q., Wu, Y., & Fu, S. (2015). Mutations of short tandem repeat loci in cases of paternity testing in Chinese. 51, 18–19.  
<https://doi.org/10.1007/s00414-015-1229-8>
- Tipos de mutación | Fundación CK-12. (2020). Retrieved from <https://www.ck12.org/book/ck-12-conceptos-biología/section/4.8/>
- Tipos de mutaciones | Guía Metabólica. (2020). Retrieved from <https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/noticia/tipos-mutaciones>
- Tolosa, A. (2019). Desarrollado un método de amplificación del ADN basado en CRISPR - Genotipia. Retrieved March 25, 2020, from *Genetica Medica News* website: [https://genotipia.com/genetica\\_medica\\_news/pcr-crispr/](https://genotipia.com/genetica_medica_news/pcr-crispr/)
- Trejos, D. E., Hrbek, T., Setaluri, V., & Ramos, C. W. (2016). Genetic Ancestry of the Panamanian Population : Polymorphic Structure , Chibchan Amerindian Genes ; and Biological Perspectives on Diseases. 9(1), 1–14.  
<https://doi.org/10.5580/IJBA.44045>
- Vázquez Lobo, A., & García Morales, A. (2014). *Microsatélites. Herramientas Moleculares Aplicadas En Ecología: Aspectos Teóricos y Prácticos*,

(Hancock 1999), 75–100. Retrieved from [http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/consultaPublicacion.html?id\\_pub=710](http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/consultaPublicacion.html?id_pub=710)

Weber, J., & Wong, C. (1993). Mutation of human short tandem repeats. In *Human Molecular Genetics* (Vol. 2).

Wojtas, M., Piniewska, D., Polańska, N., Stawowiak, A., & Sanak, M. (2013a). Mutations of microsatellite autosomal loci in paternity investigations of the Southern Poland population. *Forensic Science International: Genetics*, 7(3), 389–391. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.12.010>

Wojtas, M., Piniewska, D., Polańska, N., Stawowiak, A., & Sanak, M. (2013b). Mutations of microsatellite autosomal loci in paternity investigations of the Southern Poland population. *Forensic Science International: Genetics*. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.12.010>

Wong, W. S. W., Solomon, B. D., Bodian, D. L., Kothiyal, P., Eley, G., Huddleston, K. C., ... Niederhuber, J. E. (2016). New observations on maternal age effect on germline de novo mutations. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms10486>

Xiao, C., Peng, Z., Chen, F., Yan, H., Zhu, B., Tai, Y., ... Chen, L. (2018). Mutation analysis of 19 commonly used short tandem repeat loci in a Guangdong Han population. *Legal Medicine*, 32, 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2018.03.005>

Yatsenko, A. N., & Turek, P. J. (2018). Reproductive genetics and the aging male: The epidemiology of advanced paternal age. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 933–941. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2012.10.027>

Ye, Y., Liang, Y., Luo, H., Wang, Y., Zhou, D., Wu, W., ... Hou, Y. (2017). Genetic diversity of 23 autosomal STR loci in a Tibetan population. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6, e101–e103.

<https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.041>

Zauza-Carrasco, M. I., Rosenfeld-Mann, F., & Estrada-Juárez, H. (2015). Análisis de las variaciones en el número de repeticiones de 5 marcadores ancestrales en donadores recurrentes en México. *Perinatología y Reproducción Humana*, 29(4), 152–156. <https://doi.org/10.1016/j.rprh.2015.12.007>

Zauza-Carrasco, M. I., Rosenfeld-Mann, F., & Estrada-Juárez, H. (2016). Análisis de las variaciones en el número de repeticiones de 5 marcadores ancestrales en donadores recurrentes en México. *Perinatología y Reproducción Humana*, 29(4), 152–156. <https://doi.org/10.1016/j.rprh.2015.12.007>

Zhang, B., Li, Z., Li, K., Chen, P., & Chen, F. (2019). Forensic parameters and mutation analysis of 23 short tandem repeat (PowerPlex® Fusion System) loci in Fujian Han Chinese population. *Legal Medicine*, 37, 33–36. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2019.01.005>

Zao, Z., Zhang, J., Wang, H., Liu, Z. P., Liu, M., Zhang, Y., ... Zhang, H. (2015). Mutation rate estimation for 15 autosomal STR loci in a large population from Mainland China. *Meta Gene*, 5, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2015.07.006>



# **ANEXO**

# ANEXO 1

## HOJA DE COLECTA REGISTRO DE DATOS Y TOMA DE MUESTRA DE SANGRE Y/O CÉLULAS DE RASPADO BUCAL

	<b>INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES</b> <b>SUBDIRECCIÓN DE CRIMINALÍSTICA</b> <b>LABORATORIO DE ANALISIS BIOMOLECULAR</b> CLAYTON, CIUDAD DEL SABER, EDIFICIO 222, PLANTA BAJA TEL. 507-3200 FAX: 317-1065						
	<b>HOJA DE REGISTRO DE TOMA DE MUESTRA PARA PRUEBA DE ADN</b>	<table border="1"><tr><td>Versión</td><td>01</td></tr><tr><td>Vigencia</td><td>01/01/13</td></tr><tr><td>Página</td><td>1 de 1</td></tr></table>	Versión	01	Vigencia	01/01/13	Página
Versión	01						
Vigencia	01/01/13						
Página	1 de 1						

No. IDENTIFICACIÓN: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellido: \_\_\_\_\_

Cédula / Pasaporte: \_\_\_\_\_

Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_

Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_\_

Grupo Poblacional: \_\_\_\_\_

Transfusiones recientes: \_\_\_\_\_

Enfermedades: \_\_\_\_\_

Indice Izquierdo:

Indice Derecho:

Yo \_\_\_\_\_ con documento de identidad No. \_\_\_\_\_  
acepto donar \_\_\_\_\_ muestra de sangre al Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses  
para que se extraiga el ADN con fines exclusivamente identificatorios y con estricta  
reserva de mi identidad. El perfil genético extraído de mi sangre será almacenado en una  
base de datos bajo custodia del IMELCF quien está obligado a la confidencialidad de la  
información y cuya única difusión científica podrá ser la referente a estadísticas anónimas  
(frecuencia de perfiles genéticos).

Toma de Muestra Realizada por: \_\_\_\_\_

Lugar de la Toma de muestra: \_\_\_\_\_

Tipo de Muestra Tomada: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Muestra recibida en el laboratorio por: Fecha: \_\_\_\_\_

Observaciones: \_\_\_\_\_

Fuente: Laboratorio de Análisi Biomolecular, Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Panamá, 2000.

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Pagina</b>
Cuadro 1	Información de los Microsatellites Comunmente Utilizados en el CODIS.	34
Cuadro 2	Tipos de Mutaciones.	39

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
Tabla 1	Mutación de Origen Maternal.	55
Tabla 2	Mutación de Origen Paternal.	56
Tabla 3	Origen Inconcluso de la Mutación.	56
Tabla 4	Origen Parental del Número de Eventos Mutacionales.	60
Tabla 5	Rango de Edad de los Parentales y Número de Eventos Mutacionales.	63
Tabla 6	Distribución Geográfica de los Eventos Mutacionales por Provincia o Región Geográfica.	65
Tabla 7	Población Estimada por Provincia (Censo 2010) y Número de Solicitudes de Pruebas de Determinación de la Relación Filial.	65
Tabla 8	Tasa de Mutación y Número de Eventos Mutacionales por Marcador STR.	68
Tabla 9	Rango de Número Eventos de Mutación, Según Marcador.	70
Tabla 10	Mutación en el Marcador FGA.	74

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
Figura 1	Modelo estructural de la molécula de ADN.	26
Figura 2	El cromosoma humano.	27
Figura 3	Origen de las células germinales y las células somáticas.	28
Figura 4	Funciones de los microsatelites.	32
Figura 5	Nomenclatura de los microsatelites.	33
Figura 6	Alteraciones cromosómicas.	38
Figura 7	Modelo de explicación del origen de las mutaciones.	40
Figura 8	Papel FTA (Flinders Technology Associates).	49
Figura 9	Tubos de 0,2 ul, 1.5 ml y 2.0 ml.	49
Figura 10	Termociclador PCR 9700.	50
Figura 11	Analizador Genético ABI PRISM® 310.	50
Figura 12	Analizador genético 3500	50