



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO ¹²
FACULTAD DE CIENCIAS

DISTRIBUCIÓN DE LAS FRECUENCIAS ALÉLICAS
Y GENOTÍPICAS DE LOS SISTEMAS DE
IDENTIFICACIÓN FORENSE HLA DQA1,
POLYMARKER Y D1S80 EN LA
COMUNIDAD JUDÍA MEXICANA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
MARÍA EUGENIA AMBRIZ FRANCO ROMERO



DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. ALFONSO MACARIO LUNA VÁSQUEZ



2002

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

*DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS ALELICAS Y GENOTIPICAS DE LOS SISTEMAS DE IDENTIFICACION FORENSE HLAD*1, POLYMARKER Y DIS80 EN LA COMUNIDAD JUDIA MEXICANA.*

realizado por *María Eugenia Ambríz Franco Romero*

con número de cuenta *8825573-6* , quién cubrió los créditos de la carrera de *Biología*

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

M. en C. Alfonso Macario Luna Vásquez

Propietario

Biól. Miguel Angel Meneses Pérez

Propietario

Q.F.B. María Lourdes Vega Navarrete

Suplente

Biól. René Cerritos Flores

Suplente

M. en C. Emilio Joaquín Cordova Alarcón

FACULTAD DE CIENCIAS
U. N. A. M.

Consejo Departamental de *Biología*

Dra. Patricia Ramos Moral



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Juan Francisco y Marta. En primer lugar gracias por su gran amor, por construirme un camino y enseñarme a andar en él, a levantarme, a ser fuerte, sensible, a soñar. Por su gran ejemplo de sencillez, constancia y entrega. Papi te quiero mucho, Mami (tusita) gracias por seguir aquí, por cuidarnos, te extraño.

A mi hermana: gordis gracias por quererme y cuidarme, por tu familia. Te quiero muchisisisimo.

A mi querida familia de la Garza por su amor incondicional. Hasta arriba, con mucho cariño para mi tía Yolanda, a mi querida Charo, Pili, Yola, Muna, mi flaco Arturin y Oscar.

Con cariño para mis tíos Mari Paz Corona, Elisa Quintanar y Mario Campos, por su gran ejemplo de hermanos del alma, de amistad por siempre.

Quiero agradecer de forma muy especial, por brindarme siempre su apoyo a lo largo de mi formación profesional y personal, así como durante el desarrollo de este trabajo a los señores Dr. Pedro Estrada González, Dr. Luis Rives Galicia, al Biól. Carlos Carriedo Rico y al Quím. Noé Tapia Albino.

Gracias al Químico Alfonso Luna por guiarme desde el principio en esta maravillosa área de la Genética Forense, por compartir sus conocimientos, experiencia y por su amistad.

A la QFB. Lourdes Vega Navarrete. Lulu gracias por tus enseñanzas, por preocuparte en que siga adelante en mi formación académica, por brindarme tu amistad y permitirme ser parte del laboratorio.

Agradezco al Biól. Miguel Ángel Meneses por su valioso tiempo, consejos, conocimientos académicos durante la carrera y por su gran ayuda en el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos

Por la fortuna de coincidir en espacio y tiempo con ustedes, con cariño para Vero Genis y familia, Diana Segura, Belem, Marcia, Chaya, Tony, Sandra, Roger, Rana, Emilio, Ale y Simón. Pasan los años y tengo la suerte de seguir conociendo gente que me hace la vida muy divertida, que me enseña, que me apoya siempre y cuando me lo merezco me regañan, gracias por su valiosa amistad a Elenita, Edna, niña Vero, Toto, Lulu V.P., Esteli-ca..., Yorchito y a mi gordito Marco.

ÍNDICE

RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	vii
CAPÍTULO I.- HISTORIA Y MIGRACIÓN DE LA COMUNIDAD JUDÍA MEXICANA	1
1.1.- Historia	1
1.2.- Los Judíos en México 1519- 1580	2
1.3.- Comunidad Judía Moderna	2
CAPÍTULO II.- GENÉTICA DE POBLACIONES	5
2.1.- La población	5
2.2.- Migración	6
2.3.- Características de una población	7
2.4.- Equilibrio de Hardy - Weinberg	8
2.5.- Deriva génica y Flujo génico	9
2.6.- Subpoblaciones	10
CAPÍTULO III.- GENERALIDADES DEL ADN	11
3.1.- Genética	11
3.2.- Mendel	11
3.3.- El ADN	11
3.4 Polimorfismos del DNA	13
CAPÍTULO IV.- MARCADORES GENÉTICOS HUMANOS	16
4.1.- Los primeros marcadores genéticos	16
4.2.- Método de análisis de un marcador genético	17
4.3.- Selección de un marcador genético con aplicación forense	17
4.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa	18
CAPÍTULO V.- SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN FORENSE	19
5.1.- HLA DQA1	19

5.2.- POLYMARKER	21
5.3.- Reverso de Dot Blot	22
5.4.-D1S80	22
CAPÍTULO VI.- APLICACIÓN DE LOS TRES SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN FORENSE	25
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
JUSTIFICACIÓN	29
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS PARTICULARES	31
HIPÓTESIS	31
DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	32
CAPÍTULO VII.- METODOLOGÍA	33
CAPÍTULO VIII- ANÁLISIS DE RESULTADOS	38
8.1.- Lugar DE Nacimiento	38
8.2.- Sistema sanguíneo ABO	40
8.3.- Sistema HLA DQA1	41
8.4.- Sistema Polymarker	48
8.5.- Sistema D1S80	56
8.6.- Equilibrio de Hardy - Weinberg	63
8.7.- Diferencias significativas entre la Comunidad Judía del D.F. y el Valle de México	63
8.8.- Parámetros estadísticos útiles en el área forense	64
CAPÍTULO IX.- - DISCUSIÓN	66
CAPITULO X.- CONCLUSIONES	70
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXO A.- Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los 3 sistemas de aplicación forense entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F	77

ANEXO B. - TÉCNICAS Y REACTIVOS	81
GLOSARIO	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I.- Características de los 3 sistemas genéticos con aplicación forense	24
Tabla II.- Lugar de nacimiento de los padres	38
Tabla III.- Lugar de nacimiento de los abuelos	39
Tabla IV.- Frecuencias del Sistema ABO y Rh+ en la comunidad judía del D.F. y el Valle de México	40
Tabla V.- Distribución de las frecuencias genotípicas del sistema genético HLA DQA1 en 112 individuos de la Comunidad Judía del D.F.	42
Tabla VI.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en el sistema genético HLADQA1 en 112 individuos de la Comunidad Judía del D.F.	43
Tabla VII.- Distribución de las frecuencias alélicas del sistema HLADQA1 en diferentes poblaciones mundiales	46
Tabla VIII.- Distribución de las frecuencias genotípicas en el sistema genético Polymarker en 115 individuos de la Comunidad Judía del D.F.	49
Tabla IX.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en los 5 loci del sistema genético Polymarker en 115 individuos de la Comunidad del D.F.	50
Tabla X.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en el sistema genético Polymarker en diferentes poblaciones mundiales.	53
Tabla XI.- Distribución de las frecuencias genotípicas observadas en el locus D1S80 en 105 individuos de la Comunidad Judía del D.F.	56
Tabla XII.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en el sistema genético D1S80 en 105 individuos de la Comunidad Judía del D.F.	57
Tabla XIII.- Distribución de las frecuencias alélicas del sistema genético D1S80 en diferentes poblaciones mundiales	61

Tabla XIV.- Resultados de la Ji- cuadrada utilizando el índice de fijación Fis	63
Tabla XV.- Resultados de la Ji-cuadrada para establecer diferencias significativas	63
Tabla XVI.- Valores de heterocigocidad y Homocigocidad, de los sistemas HLADQA1, Polymarker y D1S80	64
Tabla XVII.- Valores de Poder de discriminación y Poder de exclusión de los sistemas HLADQA1, Polymarker y D1S80	64
Tabla XVIII.- Comparación de las frecuencias genotípicas del sistema HLADQA1 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	77
Tabla XIX.- Comparación de las frecuencias alélicas del sistema HLADQA1 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	77
Tabla XX.- Comparación de las frecuencias genotípicas del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	78
Tabla XXI.- Comparación de las frecuencias alélicas del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	78
Tabla XXII.- Comparación de las frecuencias genotípicas del sistema D1S80 entre el Valle de México. y la comunidad Judía del D.F.	79
Tabla XXIII.- Comparación de las frecuencias alélicas del sistema D1S80 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Sistema HLADQ Alpha	20
Figura 2.- Sistema Polymarker	21
Figura 3.- Sistema D1S80	23
Figura 4.- Comparación del sistema sanguíneo ABO entre la Ciudad de México y la Comunidad judía del D.F.	41
Figura 5.- Comparación de las frecuencias alélicas entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	43

Figura 6.- Comparación de los genotipos del sistema HLAQDA1 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	44
Figura 7.- Comparación alélica del sistema HLADQA1 en diferentes poblaciones mundiales	47
Figura 8.- Comparación alélica del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	50
Figura 9.- Comparación de los genotipos del sistema genético Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	51
Figura 10.- Comparación alélica del sistema Polymarker en diferentes poblaciones mundiales	54
Figura 10B.- Comparación alélica del sistema Polymarker en diferentes poblaciones mundiales	55
Figura 11.- Comparación alélica del sistema D1S80 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	58
Figura 12.- Comparación de los genotipos del sistema D1S80 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.	59
Figura 13.- Comparación alélica del sistema D1S80 en diferentes poblaciones mundiales	62

RESUMEN

La constitución genética de una población puede cambiar de una generación a otra mediante los procesos de mutación, migración, deriva génica y selección natural. Las poblaciones humanas presentan diferencias a nivel de fenotipo y genotipo, encontrando que las frecuencias de algunos marcadores genéticos varían según la población a estudiar.

Ha existido una gran migración, desde hace mucho tiempo, de comunidades de diversos países a México, incluyendo la judía, que desde sus orígenes, han sido objeto de una infinidad de destierros, formándose una identidad distinta y concreta consecuencia de un complejo conjunto de creencias y costumbres.

Debido a la diversidad que existe entre las poblaciones, se realizó un muestreo en la comunidad judía, incluyendo a personas sin parentesco biológico, que hayan nacido y vivan en el Distrito Federal, con la finalidad de saber, si la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de los sistemas HLA-DQA1, Polymarker y D1S80 son diferentes a las reportadas en el Valle de México.

A cada una de las personas que integran el estudio, se les aplicó una encuesta para saber el lugar de origen de los padres y de los abuelos, encontrando que, aproximadamente el 50 % de los padres nacieron en México, no siendo así para los abuelos, ya que se observó una notable reducción en los nacimientos en nuestro país.

Realizada la extracción del material genético de las muestras de saliva y sangre, se procedió a amplificar las secuencias específicas de DNA, por medio de la técnica de PCR de los sistemas HLA-DQA1, Polymarker y D1S80, después de la tipificación de los resultados y el tratamiento estadístico se observó lo siguiente:

La muestra de la comunidad judía del D.F. se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg. Se estableció que existen diferencias significativas entre la población del Valle de México y la comunidad Judía de l D.F. para el sistema HLA-DQA1, los loci LDLR, GYPA y GC del sistema Polymarker, así como el D1S80, motivo por el cual los datos se manejarán por separado y se generará un banco de datos contemplando a la mayoría de los individuos del Distrito Federal, tomando en cuenta su origen antropológico.

Los 5 marcadores del sistema Polymarker presentan una heterocigocidad baja a comparación de los sistemas HLA-DQA1 y D1S80 con valores del 74% y 77% respectivamente. Se realizó una comparación mundial de las frecuencias alélicas de los tres sistemas encontrando que la comunidad judía del D.F. presenta una distribución similar a la reportada para poblaciones caucásicas.

Los valores calculados para los tres sistemas genéticos establecen un poder de discriminación del 99.99 y un poder de exclusión del 93.53%, lo que indica que pueden ser utilizados para casos de identificación, violación, homicidios y paternidades.

INTRODUCCIÓN

La Humanidad es una gran población dividida en razas, que a su vez se subdividen en comunidades lingüísticas, políticas, económicas, religiosas y en otros grupos dentro de los cuales, los cruzamientos entre sí son más frecuentes que entre individuos de diversos grupos.

La constitución genética de una población puede cambiar de una generación a otra mediante los procesos de mutación genética, migración, deriva y selección natural.

Dobzhansky, distinguido genetista norteamericano dice " todos los hombres han sido creados iguales y sin embargo no son todos idénticos " ⁽¹⁾. Las diferencias entre las personas existen tanto dentro de una misma población como entre poblaciones diferentes. Por lo general, la variabilidad entre los individuos de una misma población se percibe en relación con algunas características particulares, esto crea estereotipos que en realidad describen a algunas personas de cada población y ocultan la gran variabilidad que existe dentro de cada grupo ⁽¹⁾.

La mayoría de los caracteres que distinguen a las poblaciones son hereditarios y genéticamente determinados, estas variaciones se deben a diferencias en las estructuras genéticas. De acuerdo con estos conceptos Dobzhansky define como raza " a las poblaciones que se diferencian en la frecuencia de algunos genes" y Laughlin considera como raza " a grupos de individuos entre los cuales el intercambio de genes ha estado restringido por algún tiempo" ⁽¹⁾. Ambas definiciones contienen dos elementos fundamentales: 1.- eliminan los estereotipos fenotípicos basados en características superficiales como el color de la piel y 2.- implican la posibilidad de cambio con el tiempo ^(1, 2).

Se debe enfatizar que lo diferente entre las poblaciones es la frecuencia relativa de los alelos de un sistema o marcador genético pero los genes son idénticos entre sí. Para estudiar desde este punto de vista a las poblaciones, conviene examinar el mayor número posible de marcadores genéticos.

Para conocer la frecuencia y distribución de un loci en una población es necesario investigar la característica que determina para de ahí deducir la composición genética. Para hacer eso, en condiciones ideales, se requiere lo siguiente:

1.- El carácter analizado debe ser determinado genéticamente y la influencia de factores exógenos sobre el carácter debe ser nula, de tal forma que no se generen

diferencias individuales con respecto a ese rasgo, atribuibles, por ejemplo al clima o a la alimentación.

2.- El carácter hereditario debe ser discontinuo, permitiendo distribuir a los individuos en grupos o clases perfectamente diferenciados.

3.- Conocer como se hereda la característica en cuestión.

4.- Los caracteres hereditarios estudiados deben poseer una frecuencia génica adecuada y en equilibrio en la población^(1,3).

La presencia de grupos con características identificadoras específicas que los diferencian del grupo general en el cual genéricamente se les incluye, da como resultado la formación de subpoblaciones. Las frecuencias alélicas y genotípicas de diversos sistemas genéticos varían mucho según la población a estudiar debido a los diferentes orígenes antropológicos dentro de una misma población⁽¹⁾.

Actualmente en el laboratorio de Genética Forense de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal se utilizan para la identificación de individuos los marcadores HLA-DQA1, Polymarker, DIS80. Últimamente se han incorporado los microsatélites de pequeñas repeticiones en tandem STR's (por sus siglas en Inglés Short Tandem Repet), Profiler Plus y Cofiler, todos susceptibles de ser analizados por la técnica de amplificación de ADN, Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR (por sus siglas en Inglés). En conjunto estos sistemas de identificación forense permiten obtener un perfil genético casi único en el mundo, ya que la probabilidad de encontrar dos personas que presenten el mismo perfil genético es muy baja, superando estadísticamente a la población mundial.

El análisis del genoma de cada individuo permite obtener su perfil genético el cual es único e irreplicable, salvo se posea un hermano gemelo idéntico debido a que provienen del mismo óvulo fecundado. El ADN es común a todas las células del cuerpo de un individuo, permitiendo por lo general obtener el mismo resultado no importando el tejido que se utilice⁽⁴⁾.

CAPÍTULO I.- HISTORIA Y MIGRACIÓN DE LA COMUNIDAD JUDÍA A MÉXICO.

1.1.-Historia.

La historia judía desde sus inicios hasta el presente abarca 4 milenios, es decir más de tres cuartas partes de la historia de la humanidad civilizada. Hebrón en el actual Israel se encuentra a unos 32 kilómetros al sur de Jerusalén, a 1,000 metros de altura, en las montañas de Judea. Ahí, en la cueva de Macpelá, están las tumbas de los Patriarcas, de acuerdo con una antigua tradición, un sepulcro, contiene los restos mortales de Abraham, fundador de la religión judía. Aquí es donde comienza la historia de esta comunidad. Las piedras de Hebrón son testigos mudos de las luchas constantes y de cuatro milenios de disputas religiosas y políticas, refleja la larga y trágica historia de los judíos y su capacidad sin igual para sobrevivir al infortunio. Allí se ungió rey a David, el primer monarca de Judá y posteriormente de todo Israel ⁽⁵⁾.

Cuando Jerusalén cayó, los judíos fueron expulsados y el lugar fue poblado por Edom, posteriormente fue conquistado por Grecia, después por Roma, convertido, saqueado por los celotas (individuo judío perteneciente a un movimiento religioso, caracterizado por su rigidez de su integrista religioso) quemado por los romanos y ocupado sucesivamente por árabes, francos (pueblo germánico que habitó en la Galia transalpina la cual se extendía entre el atlántico, el Rhin, los alpes y los pirineos) y mamelucos (guerreros de origen turco caucásico empleado en la guardia de los príncipes de Persia y Egipto) ⁽⁵⁾.

La casi total destrucción de la comunidad judía palestina en el siglo II d.C., convirtió a los sobrevivientes de las comunidades rurales judías en residentes urbanos marginales. Después de la conquista árabe durante el siglo VIII, las grandes comunidades judías de Babilonia se vieron desintegradas paulatinamente por los elevados impuestos, de modo que también allí los judíos emigraron a las ciudades por lo que consiguieron establecerse en cualquier lado.

En la era del oscurantismo los asentamientos europeos de los judíos estaban representados por colonias distribuidas alrededor del Mediterráneo, se extendieron hacia el Báltico, Polonia y por Ucrania, aunque los judíos estaban muy dispersos, no eran muy numerosos, de alrededor de 8 millones en tiempos de Cristo, en el siglo X había descendido a un número que oscilaba entre un millón y un millón y medio. En 1518 hubo una terrible masacre otomana de los judíos de Hebrón. La comunidad judía, nunca muy numerosa, fue atacada por los árabes en 1929, la atacaron nuevamente en 1936 y prácticamente la eliminaron.

Cuando los soldados israelíes entraron a Hebrón durante la guerra de los Seis Días de 1967, hacía una generación que no vivía allí un solo judío, pero en 1970 se integro nuevamente un modesto asentamiento ⁽⁵⁾.

1.2. - Los Judíos en México (1519 - 1580)

En el año de 1509 se le permitió a los judíos venir al "Nuevo Mundo" por tiempo limitado para que se ocuparan del comercio, pero sólo después del pago de 20,000 ducados al tesoro real. El Rey Fernando y su sucesor, Carlos V, intentaron restringir la emigración de judíos, pero su política fracasó, la emigración ilegal era la regla general durante las primeras tres décadas del siglo XVI. Muchos judíos abordaban los barcos en las Islas Canarias y con el empleo de sobornos obtenían pasaje para México o para el Istmo. Por lo general se cambiaban el nombre o se hispanizaban. De este modo casi inmediatamente después de la Conquista de México se presentó una gran afluencia de conversos.

Muchos de los integrantes de la comunidad judía fueron perseguidos y muertos por la inquisición en 1523, sentenciándolos a la hoguera. Sin embargo, hacia 1536 ya había una comunidad medible en México y a pesar de la Inquisición, la colonia continuó creciendo y prosperando en la ciudad de México, en Pachuca y en la zona de Nuevo León y los conversos discretamente practicaban en privado sus antiguos ritos ⁽⁶⁾.

Los Carvajal son una de las familias importantes en la historia de los judíos en México. Un mal negocio de trigo indujo a Luis de Carvajal a embarcarse para el Nuevo Mundo, arribó por primera vez a la Nueva España, trayendo un navío cargado de vinos, que se vendieron en Veracruz, México y Zacatecas, fue nombrado alcalde de Tampico y se dirigió al Pánuco. El virrey empleó a Carvajal en Mazapil, para la pacificación de los indios, y más tarde a los de Jalpa. Por los años de 1576 Carvajal reprimió a los indios fronterizos de la huasteca y se le ordenó que con una compañía de soldados hiciera una incursión tierra adentro, descubriendo el Nuevo Reino de León.

Luis de Carvajal decidió regresar en 1578 a España para solicitar recompensa y traer a su mujer y parientes al Nuevo Mundo. Junto con su familia, amigos y otras personas viajaron al Nuevo mundo con el fin de cambiar su residencia a un país extranjero, en que no tuviera que temer persecuciones del Santo Oficio, para entregarse libremente a la práctica de su religión judía y educar en ella a sus hijos ⁽⁷⁾.

1.3. - Comunidad Judía moderna.

En realidad no fue sino hasta finales del siglo XIX y principios del XX, cuando se empieza a constituir la actual Comunidad judía a partir de la inmigración masiva de judíos provenientes principalmente de Rusia, Polonia, Alemania, Siria, Turquía, Grecia (sobre todo Salónica) y Libano (los Balcanes y Europa Oriental), quienes huían de las condiciones de persecución y marginación en las que vivían, representando de esta manera a dos comunidades judías los Ashkenazis (descienden de los judíos que se establecieron en los países germanos y las ciudades vecinas al este de Europa) y los Sefarditas (originarios de España y Portugal que se desarrollaron entre los siglos X y XV).

Lo anterior se ve reflejado durante la presidencia de Porfirio Díaz (1877- 1910), en donde hubo una presencia judía significativa, más por su impacto que por su cantidad, debido a una invitación a la inmigración europea, facilitando la llegada de los judíos (franceses principalmente) cuya presencia fue muy importante en el progreso de México. Basándose en el lugar de origen la Comunidad judía mexicana se divide en cuatro : Aleppo, Damasco, Europa oriental y los Balcanes.

En el último decenio del Porfiriato, se estableció en la ciudad de México una comunidad judía activa que actuó como grupo base aportando liderazgo y ayuda a los nuevos inmigrantes que llegaron a México entre 1921 y 1930, por tal motivo la comunidad judía constituida en esa época se considera como la etapa inicial de la comunidad judía contemporánea de México ⁽⁸⁾.

En 1930 se calculó la población judía en México en más de 21,000 residentes permanentes, en 1941 el censo realizado por el Comité de Historia Judía en México creado por León Sourasky arrojó la cifra de 12,988 judíos en la ciudad de México. La comunidad en la actualidad está compuesta por aproximadamente 40,000 personas, la gran mayoría radica en la ciudad de México y zonas conurbadas del Estado de México, mientras que el resto reside en Guadalajara (200 familias), Monterrey (200 familias), Tijuana (60 familias) y una minoría se esparcen en otras ciudades como Veracruz, Puebla, y Cuernavaca ⁽⁸⁾.

En el área del centro de la ciudad de México, donde los primeros inmigrantes judíos se establecieron, se fundó primera sinagoga en 1912, en la ciudad se encuentran 23 sinagogas aproximadamente, dos son Ortodoxas y las demás son Conservadoras.

Los judíos crearon una identidad distinta y concreta antes que casi todos los restantes pueblos que aun sobreviven y la han mantenido en medio de abrumadoras adversidades hasta el momento actual, han penetrado en muchas sociedades y han dejado su marca en todas.

La base de la unión de la Comunidad judía se encuentra en la religión: el aislamiento es la consecuencia de una compleja constelación de creencias y costumbres, de rasgos heredados de las más diversas fuentes y hasta de los hábitos culinarios ^(5,9). Por lo anterior podemos definir a los judíos como un pueblo cuyos elementos básicos de identidad y continuidad como grupo son lazos de unión fundamentalmente religiosos, entendiendo a la religión no sólo como un conjunto de dogmas o ritos, si no como una forma de conducta y de conocimiento que relaciona al hombre con sus semejantes y con Dios.

El pueblo judío aunque dejaron de formar una nación, en el sentido territorial de la palabra, desarrollaron una forma de vida judía que los mantuvo unidos. Así los judíos organizaron su vida con base en comunidades separadas y autónomas, pero en contacto unas con otras. Las comunidades han servido como marco para preservar la fe y la forma de vida judías y al mismo tiempo se han protegido mutuamente de la hostilidad y las persecuciones ⁽⁸⁾.

CAPÍTULO II. - GENÉTICA DE POBLACIONES

2.1. - La Población.

En su más amplio sentido, cualquier conjunto de seres vivos constituye una población. La genética no obstante está interesada más particularmente en las poblaciones mendelianas de organismos que se reproducen sexualmente y por fecundación cruzada. Dobzhansky define a la población mendeliana o comunidad reproductora como una comunidad de individuos de una especie con reproducción sexual dentro de la cual se produce el apareamiento de los mismos ⁽²⁾.

La genética de poblaciones trata de explicar, en términos cuantitativos y predictivos, procesos evolutivos, implica el análisis de la distribución de genes y genotipos en la población y el modo en que las frecuencias de las mismas se conserva o se modifica aplicando conceptos mendelianos a todos los apareamientos de una población ^(2, 10).

Una población genética es un grupo espacial y temporal de individuos conespecíficos que se reproducen por intracruzamiento. La población genética tiene continuidad a través del tiempo por la interconexión reproductiva entre las generaciones y tiene unidad espacial por el cruzamiento entre sus miembros. Una población puede aumentar o disminuir de tamaño por la migración de individuos hacia adentro o hacia afuera, o por la diferencia en el número de nacimientos y muertes ⁽¹¹⁾.

La constitución genética de una población puede cambiar de una generación a otra mediante los procesos de mutación genética, migración, deriva y selección natural. Desde el punto de vista evolutivo, un individuo es efímero; únicamente las poblaciones persisten a lo largo del tiempo. La continuidad procede del mecanismo de herencia biológica.

En las distintas partes del área de distribución de una especie, los representantes de la misma generalmente presentan diferencias. Esta variabilidad local, regional o racial es más pronunciada en unas especies que en otras. Las especies que se hallan bien diferenciadas geográficamente se denominan politípicas; la humanidad constituye un ejemplo de especie politípica. El carácter politípico consiste en la variabilidad entre poblaciones o grupos, en cuanto a la incidencia de algunos alelos u otras variantes genéticas en su conjunto común de genes ⁽²⁾.

Los individuos de una población son variables tanto genotípicamente como fenotípicamente. Las diferencias entre razas pueden ser grandes o pequeñas, van desde poblaciones que difieren en las frecuencias de un solo gen o un reducido número de genes o variantes

cromosómicas hasta poblaciones que se encuentran en el proceso de formación de un mecanismo de aislamiento reproductor y por tanto que se haya a punto de convertirse en especies distintas. Las diferencias entre poblaciones son más bien cuantitativas que cualitativas.

Las poblaciones humanas distintas desde el punto de vista racial eran originalmente alopátricas, la separación geográfica o las barreras ecológicas limitaba las posibilidades de cruzamiento y de intercambio génico entre las mismas, favoreciendo por tanto la divergencia genética. Al desarrollarse las culturas surgió una situación nueva. Algunas poblaciones diferenciales racialmente se hicieron simpátricas. El intercambio de genes entre las mismas incrementó al compararlo con el pasado alopátrico, aunque generalmente en grado suficiente para que la raza se fusionase dando poblaciones variables únicas ⁽²⁾.

2.2.- Migración.

Cuando la población se transforma, como resultado de nuevas migraciones o de la vecindad con asentamientos próximos que implican además cambios sociales y culturales traducibles en uniones preferenciales, marginación social o intensificación del aislamiento para grupos menores o como escape o huida de la civilización y refugio en sitios más apartados, se generan cambios genéticos. La migración modifica la estructura original de las poblaciones, perdiéndose con ello la información sobre la estructura ancestral, información no recuperable.

Cuando una población está constituida sólo por un grupo reducido de individuos cuyos asentamientos se encuentran restringidos por la influencia de barreras ecológicas que condicionan su aislamiento al cabo de algunas generaciones, prácticamente, todos los descendientes comparten ancestros en común y por lo tanto están emparentados entre sí; esto significa también, que comparten genes idénticos por descendencia y que por lo tanto proceden de algún tipo de uniones consanguíneas. El efecto de la endogamia se traduce en que cierto porcentaje de los individuos posee genotipos homocigotos con respecto a determinados loci ⁽¹²⁾.

Por otra parte, en las áreas habitadas por numerosos y extensos grupos de población los individuos quedan comprendidos en segmentos, particularmente diversificados en distintos niveles socioeconómicos, donde, además de uniones al azar y cierto porcentaje de uniones consanguíneas se registran apareamientos entre individuos cuyos fenotipos resultan semejantes o francamente opuestos para ciertos rasgos. Tanto la consanguinidad como las uniones preferenciales alteran las proporciones genotípicas, así como la distribución de los genes entre los distintos genotipos que

tienden a separarse de las frecuencias esperadas en la población en equilibrio, aunque las frecuencias génicas se mantengan constantes.

2.3.- Características de una población

La forma como las poblaciones reaccionan frente a los cambios ambientales depende de las características genéticas de los individuos, del tipo y de la magnitud de la variabilidad genética de la población. Por lo que se refiere a los individuos, las características más importantes son la continuidad de la herencia, la capacidad de cambio por mutación y de la integración armónica del genotipo. Con relación a las características principales que debe presentar una población humana son: variabilidad genética, recombinación genética, continuidad hereditaria, capacidad de mutación, capacidad excesiva de reproducción, capacidad ilimitada de crecimiento, lo que exige la destrucción de individuos a fin de que su tamaño se mantenga constante.

Hay tres procesos principales mutación, recombinación genética y selección natural que son consecuencia universal e inevitable de la naturaleza de los organismos, de la estructura genética de las poblaciones y de la diversidad existente en las interacciones entre la población y su ambiente. Estos procesos son esenciales para que se produzca el cambio evolutivo y la divergencia^(1,2).

Para realizar un estudio en una población humana se necesitan tener en cuenta varios factores como:

- Sistema de apareamiento.- Panmíctica, en donde el individuo tiene iguales posibilidades de aparearse con cualquier miembro del sexo contrario no importando su genotipo.
- Mutación.- Las mutaciones pueden cambiar un estado alélico por otro. Si existen mutaciones es posible que las frecuencias génicas entre los gametos, no sean un reflejo de los progenitores a menos que el cambio sea igual en ambos sentidos.
- Migración.- La introducción o desaparición de genotipos de manera desproporcionada pueden modificar las frecuencias génicas hasta el grado de alterar la generación parental. La inmigración de individuos extraños a la población y la emigración de sus miembros cambian las frecuencias de los gametos que se producen, cuando los migrantes tienen frecuencias génicas distintas de las de la población original.
- Selección.- La diferente capacidad que tienen los genotipos parentales de aportar gametos funcionales y las distintas probabilidades de sobrevivencia de los diversos gametos y cigotos pueden modificar las frecuencias génica y genotípica de la descendencia en relación con las de la generación anterior^(1,12).

2.4.- EQUILIBRIO DE HARDY - WEINBERG.

Puesto que pocas poblaciones naturales están libres de las fuerzas perturbadoras anteriores, la existencia de los estados de equilibrio parece puramente teórica. Sin embargo en las poblaciones grandes, con apareamiento al azar, se predice un estado de equilibrio genético cuando no existen fuerzas evolutivas que puedan modificar las frecuencias génicas.

La genética de poblaciones se funda en un principio demostrado en 1908 independientemente por Hardy, en Inglaterra, y Weinberg, en Alemania, demostrando que en ausencia de fuerzas (mutación, selección, deriva génica y migración diferencial) que cambien las frecuencias génicas las poblaciones pueden tener cualquier proporción de caracteres dominantes y recesivos y la frecuencia relativa de cada alelo tiende a permanecer constante de generación en generación ⁽²⁾. La ley de Hardy - Weinberg describe sólo la estática de las poblaciones mendelianas: por lo tanto se debe tomar en cuenta su dinámica.

Según el modelo de Hardy - Weinberg, una población "ideal", de tamaño infinito, llega a un estado de equilibrio o estado constante, esta es la antítesis de la evolución. La evolución un cambio en la constitución hereditaria de las poblaciones, de modo que existen diferencias entre ancestros y descendientes.

Cuando un gen presenta dos alelos A y a, hay tres posibles genotipos AA, Aa y aa, si las frecuencias de los dos alelos son representados por p y q, respectivamente, la frecuencia de equilibrio de los tres genotipos se establece por

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

siendo la frecuencia de AA = p^2 , la de Aa = $2pq$ y la de aa = q^2

Para que una población cumpla con el equilibrio de Hardy - Weinberg se deben cumplir las siguientes condiciones:

- 1.- La población debe ser infinitamente grande y con apareamientos al azar (panmixia).
- 2.- Que no opere la selección, es decir, cada genotipo considerado puede sobrevivir al igual que cualquier otro (no hay mortalidad diferencial) y cada genotipo es igualmente capaz de producir progenie (reproducción no diferencial).
- 3.- La población es cerrada es decir, no se permite la inmigración de individuos de otras poblaciones ni la emigración de la población en estudio.

4.- No hay mutación de un estado alélico a otro. La mutación se permite sólo si las frecuencias de mutaciones son equivalentes en los dos sentidos, es decir, A muta hacia a con la misma frecuencia que a muta hacia A.

5.- La meiosis es normal, de modo que el azar es el único factor operativo en la gametogénesis (12, 13, 14, 15).

2.5.- Deriva génica y flujo génico.

El proceso dispersante denominado deriva génica da lugar a la formación de subpoblaciones, donde los grupos difieren de la generación progenitora y de un grupo a otro, en cuanto a las frecuencias génicas. Estos cambios al azar en las frecuencias génicas entre generaciones se llama deriva génica, deriva al azar o simplemente deriva.

El efecto fundador fue definido por Mayr en 1963 de la manera siguiente: El establecimiento de una población por pocos fundadores originales lleva sólo una pequeña fracción del total de la variación genética de la población original. Si una población pequeña coloniza una nueva área, lleva todos los genes de la población ancestral, pero la frecuencia de los alelos puede ser no representativa (15).

En una población pequeña en ausencia de mutación, un alelo eventualmente se fijara para un locus y por consiguiente la población se volverá homocigota reduciendo la variabilidad en la población. La consecuencia más significativa es por lo tanto la formación de poblaciones o líneas homoalélicas e individuos homocigotos, donde los heterocigotos desaparecen (12, 15).

El flujo génico es un proceso que comprende esencialmente el ingreso de genes procedentes de otra población cuyo efecto se traduce en el cambio de algunas frecuencias génicas en la población receptora. El flujo génico es el suceso biológico que corresponde a la migración; el cambio en la estructura genética de la población receptora ocurre en cuanto a la inmigración representa un fenómeno constante, no ocasional. Si la inmigración persiste durante varias generaciones, las uniones entre inmigrantes y nativos significa la formación de descendientes en cuyo genotipo ya está representado el nuevo componente que se integra al acervo genético original incrementando así la variabilidad en la población receptora. (12) Lo anterior se puede ejemplificar en la población humana con el sistema sanguíneo ABO que es de mucho interés en el estudio de la estructura genética de poblaciones amerindias, ya que salvo pocas excepciones, en ausencia de mezcla con otros grupos humanos, el 100 % de las personas pertenecen al grupo sanguíneo O. De hecho la proporción de genes A y B presentes en grupos amerindios, se usa para calcular su grado de hibridización (14, 16).

Lo anterior se ejemplifica en la población mexicana actual, que se formó básicamente por la migración desde la Conquista de México en 1519 de españoles y en menor proporción individuos de raza negra, así como el ingreso de personas de diferentes países durante varias generaciones, originando que las frecuencias del sistema sanguíneo ABO de los indígenas se modificara de un 100% del grupo O a lo siguiente:

Grupo sanguíneo

O - 65 %, A - 25 %, B - 8.5 % y AB - 1.5%.

2.6.- Subpoblaciones.

La existencia de subpoblaciones, desde la perspectiva Genética Forense, se entiende como la presencia de grupos con características identificadoras específicas que los diferencian del grupo en el que genéricamente se les incluye. Un claro ejemplo son los países de origen relativamente moderno, en donde las grandes migraciones en masa de individuos de diversos sitios geográficos se establecieron formando comunas e integrándose, lo que actualmente provoca que no exista un equilibrio genético en algunos grupos humanos, como es el caso de los Estados Unidos de Norteamérica, Brasil, Australia, Portugal etcétera ⁽¹⁷⁾.

Las frecuencias de los diferentes alelos varían mucho según la población y subpoblación considerada. En países tan heterogéneos como Estados Unidos se consideran inicialmente, cuatro grandes grupos raciales: caucásicos (blancos), afro-americanos, orientales e hispanos (entendiéndose como los que tienen apellido español). Las diferencias entre poblaciones son enormes, pero las diferencias dentro de las poblaciones son también grandes, ya que tienen un origen antropológicamente muy variable. Por ejemplo, como hispanos se consideran inicialmente tanto a personas de origen mexicano, como a salvadoreños, a colombianos, a cubanos, Argentinos, chilenos etcétera, lo cual obviamente, es demasiado considerar desde una perspectiva genética. El grupo de raza afro- americana es aún más complejo ya que hay negros de origen cubano y antillano, negros de origen norteafricano, de distintas tribus centro y sur- africanas, de islas del pacífico, caribe y atlántico sur etcétera. ^(17, 18).

La existencia de subpoblaciones y por lo tanto de diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre los distintos grupos, da lugar a que, dependiendo de la población que se tome de referencia y de lo frecuentes que sean los genotipos implicados en el análisis en dichas poblaciones, la probabilidad con que se incluye como posible donador de una muestra biológica a un determinado sospechoso puede ser elevada si presenta en su perfil genético los genotipos menos comunes ⁽¹⁷⁾.

CAPÍTULO III.- GENERALIDADES DEL DNA.

3.1.- Genética.

La genética estudia la transmisión, expresión y evolución de los genes, las moléculas que controlan el funcionamiento, el desarrollo y la apariencia final de los individuos. La genética humana analiza científicamente las similitudes y diferencias entre los seres que constituyen la especie humana, sus causas y la manera en que se transmiten de generación en generación ^(1. 19).

3.2.- Mendel.

Las explicaciones teóricas de Mendel, actualmente están firmemente establecidas y constituyen las leyes de la herencia. Estas son dos principios importantes sobre la segregación y distribución independiente de los genes, así como algunas generalizaciones fundamentales, tales como las referentes a la dominancia y la recesividad de los caracteres en los híbridos.

La ley de la segregación o primera ley de Mendel establece que un gameto recibe sólo uno de los dos alelos que posee un organismo. En la meiosis se ha deducido el momento en que ocurre la segregación; tiene lugar mediante las divisiones meióticas.

La Ley de la transmisión independiente o segunda Ley de Mendel establece que los alelos de un gen pueden segregarse independientemente de los alelos de otros genes ⁽¹⁹⁾.

3.3.- El Ácido desoxirribonucleico (DNA).

Las funciones del DNA consisten en almacenar la información genética completa, necesaria para especificar la estructura de todas las proteínas y de cada una de las clases de RNA del organismo, en programar en el tiempo y en el espacio la biosíntesis ordenada de los componentes de las células y de los tejidos, determinar las actividades de un organismo a lo largo de su ciclo vital y, finalmente en definir la individualidad de un organismo dado.

En 1953, J. D. Watson y F. H. C. Crick postularon un modelo preciso para la estructura tridimensional del DNA, basándose en los datos obtenidos mediante la difracción de rayos X realizada por Franklin y Wilkins y en las equivalencias observadas por Chargaff. Este modelo no sólo explicaba muchas de las observaciones sobre las propiedades físicas y químicas del DNA, sino que también indicaba el mecanismo por medio del cual la información genética podía replicarse con exactitud. En el modelo proponen que el DNA es una molécula de doble cadena en forma de doble

hélice, las dos cadenas corren en forma anti-paralela y están unidas por puentes de hidrógeno con el apareamiento específico de las bases adenina con la timina y la guanina con la citosina. Los grupos fosfatos y pentosas quedan orientados fuera de la estructura. La distancia entre cada par de bases es de 0.34 nm que corresponde a una periodicidad principal y la periodicidad secundaria corresponde a una vuelta y está formada por 10 pares de bases con una distancia de 3.4 nm ^(24, 25 y 26). En la doble hélice, las dos cadenas del DNA corren antiparalelamente una de la otra, es decir, una cadena corre de izquierda a derecha en dirección 5' → 3' la cual siempre se aparea con otra cadena con una secuencia de bases complementarias que corre en dirección 3' → 5'.

Los ácidos nucleicos están formados por la unión de nucleótidos de una manera repetitiva en largos polímeros a modo de cadenas. Los nucleótidos están constituidos por 3 componentes: fosfato, azúcar y una base nitrogenada. Cuando se hallan libres en la reserva celular, los nucleótidos se encuentran generalmente en forma de trifosfatos. Tanto el DNA como el RNA presentan 4 tipos bases. Las bases nitrogenadas derivan de dos compuestos heterocíclicos originarios, la pirimidina y la purina. El DNA contiene dos bases pirimidínicas principales, la citosina (C) y la timina (T), y dos bases purínicas principales, la adenina (A) y la guanina (G) y en el RNA la timina es sustituida por el uracilo (U).

Un nucleótido se forma en la célula mediante la unión de una base al carbono 1' del azúcar y la unión de un fosfato al carbono 5' del mismo azúcar. El nucleótido toma el nombre de la base. Los nucleótidos son unidos entre sí (polimerizados) mediante la formación de un enlace fosfodiéster entre el fosfato 5' de un nucleótido y el hidroxilo (OH) del carbono 3' de una molécula adyacente. De este modo, el esqueleto covalente de los ácidos nucleicos está constituido por grupos alternantes de fosfato y de pentosa, mientras que las bases características aparecen como grupos laterales unidos al esqueleto a intervalos regulares. Debe indicarse también, que los esqueletos del DNA y RNA son muy polares, ya que los grupos fosfato son ácidos y están cargados negativamente del pH de la célula ^(19, 20).

En los eucariotas las moléculas de DNA están combinadas con proteínas formando la cromatina en el interior del núcleo, el cual está rodeado por un complejo sistema de doble membrana. David E. Comings ⁽¹⁹⁾ distinguió 3 tipos básicos de cromatina: eucromatina, heterocromatina constitutiva y heterocromatina intercalar. La heterocromatina constitutiva esta condensada e inactiva y se encuentra cerca de la región del centrómero, en los extremos de los telómeros y es rica en DNA satélite. La cromatina intercalar o facultativa en ocasiones esta condensada y otras veces es transcrita activamente apareciendo como una eucromatina.

Las principales proteínas que componen la cromatina son las histonas, las cuales integran los nucleosomas permitiendo el empaquetamiento del DNA reduciendo su longitud e indudablemente permiten el enrollamiento y compactación más eficazmente, tal y como se requiere en la meiosis y mitosis. El nucleosoma está constituido por las histonas tipo H2A, H2B, H3 y H4 y H1 ^(19, 20).

El DNA presenta tres propiedades fundamentales: polaridad, complementariedad y desnaturalización

POLARIDAD-- Las cadenas de DNA tienen una polaridad o dirección específica, ya que todos los enlaces fosfodiéster tienen la misma orientación a lo largo de la cadena. Cada cadena de DNA tiene un extremo 5' terminal y un extremo 3' terminal y corren antiparalela una de otra.

COMPLEMENTARIEDAD.- Ambas cadenas que forman el DNA son complementarias entre sí, siempre que haya una adenina en una de las cadenas se encuentra la timina en la otra y viceversa, siempre que se encuentra una guanina en la cadena, existe una citosina en la otra.

FUSION O DESNATURALIZACION.- Los enlaces de hidrógeno, a pesar de ser débiles individualmente, confieren estabilidad estructural a una molécula que tenga un gran número de ellos. Sin embargo, éstos enlaces se pueden romper y las cadenas del DNA separarse, mediante calentamiento de la molécula, desnaturalizándola. La temperatura o el pH elevado pueden ser utilizados para promover la desnaturalización, es reversible y la recuperación de la estructura original del DNA a partir de dos cadenas simples y complementarias recibe el nombre de renaturalización, donde la temperatura debe reducirse lo suficiente para formar nuevamente los enlaces entre las bases ^(19, 20, 21).

Las células humanas contienen en su núcleo 23 pares de cromosomas de los cuales un par incluye los cromosomas sexuales X y Y. En aproximadamente 3 mil millones de pares de bases del DNA del genoma humano haploide se encuentran de 25,000 a 31,000 genes. ⁽²²⁾ Los genes son las unidades básicas que controlan la herencia y se encuentran formados por secuencias nucleotídicas específicas, la porción particular que ocupa un gen en un cromosoma se denomina locus y corresponde a un fragmento cromosómico, concreto y fijo ⁽²¹⁾.

3.4.- Polimorfismos del DNA.

El polimorfismo expresa la variabilidad que existe dentro de un gen, es el número de alelos que puede haber en un locus. ⁽¹⁷⁾ El DNA contiene secuencias indicadoras de una variedad de procesos, tal como la regulación de la expresión de genes, la replicación del DNA, el empaquetamiento y segregación de cromosomas ⁽²¹⁾. En el humano las secuencias codificantes comprenden menos del 5 % del genoma, mientras que las secuencias repetidas representan por lo menos el 50 % y probablemente más ⁽²²⁾.

Por DNA codificante o expresivo podemos entender que son aquellas secuencias que determinan, por el orden de sus nucleótidos, a los diferentes genes que definirán, las características de las personas a través de la síntesis de proteínas. El DNA codificante está formado por secuencias altamente conservadas con muy pocas variaciones interindividuales e intergeneracionales. No obstante, hay algunas variaciones que incluyen cambios de bases sencillas y procesos de inserción, delección o intercambio de segmentos de DNA (recombinación) durante la formación de las células germinales. Estos cambios cuando son viables, aumentan el polimorfismo de las proteínas e isoenzimas ^(17, 21).

En general el DNA no codificante puede ser de dos tipos, según su presentación:

1.- Como copias sencillas, actuando como DNA interespaciador entre las regiones codificantes del genoma y 2.- En forma de múltiples copias repetidas o tandem.

Las secuencias repetidas en el genoma humano se puede dividir en 5 clases: 1.- transposones derivados de repeticiones, referidos frecuentemente a repeticiones interespaciadoras., 2.- copias parcialmente inactivas, usualmente se refieren a procesos de pseudogenes, 3.- repeticiones de secuencias simples relativamente cortas, 4.- duplicación de segmentos, formados por bloques de aproximadamente de 10 a 300 kilobases que han sido copiadas de una región del genoma a otra y 5.- bloques de repeticiones en tandem, así como centrómeros, telómeros, brazos cortos de cromosomas acrocéntricos y grupos de genes ribosomales.

La más larga clase de DNA repetitivo consiste de repeticiones intercaladas individualmente de una secuencia específica distribuida ampliamente en diversos puntos del genoma eucarionte. El elemento más común de este tipo es denominado familia Alu (llamada así por la enzima de restricción Alu I, donde esta secuencia generalmente contiene un sitio de corte para ésta enzima). Esta secuencia, la cual tiene una longitud aproximada de 300 pares de bases, constituye aproximadamente el 10.60 % del genoma humano, un miembro de esta familia se encontrará en promedio cada 5 a 10 pares de Kb.

Muchas de las secuencias repetidas del genoma humano se derivan de los elementos transposones, actualmente se reconoce que cerca del 45 % del genoma pertenece a

esta clase. Mucho del DNA "único" restante puede derivar también de copias de elementos transposones antiguos. ⁽²⁸⁾ Las repeticiones interespaciadoras se distribuyen en el genoma humano de la siguiente manera: elementos interespaciadores largos LINEs (por sus siglas en inglés) 21%, elementos interespaciadores cortos SINEs (por sus siglas en inglés) 13%, retrotransposones LTR (por sus siglas en inglés) 8% y DNA transposones fósiles 3% ⁽²²⁾.

El segundo tipo de DNA no codificante corresponde a las secuencias repetitivas de manera continua dispuestas en tandem. El genoma eucariótico está lleno de secuencias de DNA repetido, se designan por la longitud de la unidad de repetición y se le conoce como DNA satélite. Las unidades de repetición que presentan una longitud media entre 10 y 100 bases se conocen como minisatélites o número variable de repeticiones en tandem VNTR (por sus siglas en inglés), presentando un tamaño de 400 a 1000 pares de bases. Las unidades de repetición de 2 a 6 bases de longitud son llamadas microsátélites dentro de las cuales podemos encontrar a las repeticiones de secuencia simple SSRs (por sus siglas en inglés) y a las repeticiones cortas en tandem STRs (por sus siglas en inglés), presentando un tamaño de 100 a 400 pares de bases. Los marcadores basados en STRs se encuentran distribuidos a través de todo el genoma y se presentan en promedio cada 10, 000 nucleótidos (Edwards et al. 1991) ⁽²³⁾.

CAPÍTULO IV.- MARCADORES GENÉTICOS HUMANOS

Los marcadores genéticos humanos pueden definirse como características identificables transmitidas de padres a hijos controlados rigurosamente por genes situados en un par de cromosomas homólogos, es decir, poseen una herencia mendeliana simple y para cada uno de los marcadores todo individuo tiene 2 alelos, uno procedente de su madre y otro de su padre biológico ⁽³⁾.

4.1.- Los primeros marcadores genéticos.

Los marcadores genéticos eritrocitarios constituyen históricamente los primeros caracteres humanos de transmisión mendeliana simple que se encontraron en el hombre. Von Dungern y Hirschfeld en 1909 - 1910 ⁽³⁾ proponen que su transmisión es hereditaria. En 1924 el matemático Bernstein postula la teoría de los tres alelos donde aclara la transmisión mendeliana del sistema ABO. Este sistema es particularmente de valor limitado en la exclusión de un individuo, por lo que se tendría que recurrir a la determinación de otros marcadores sanguíneos como lo son Rh, Kell, Duffy, MNSs y Kidd, así como, la tipificación del sistema HLA, enzimas sanguíneas o proteínas séricas que muestran polimorfismo genético que incrementaría la probabilidad acumulativa de exclusión a mayor de 95 %, de este modo no requiriendo pruebas adicionales, sin embargo los costos de todas estas pruebas se elevarían demasiado. ^(3, 14, 24)

La aplicación de estos sistemas de identificación dio entrada a la ciencia en el área forense, por lo que los resultados obtenidos fueron en adelante reproducibles y el grado de confiabilidad aumentó dramáticamente. Sin embargo, la aplicación del estudio de las proteínas fue limitada, en virtud de que era necesario que la muestra se encontrara preservada en condiciones adecuadas para evitar la desnaturalización proteica, añadiendo a esto, los marcadores mencionados no se encuentran en todas las muestras biológicas, y por último, el grado de polimorfismo que permite únicamente excluir a un individuo como responsable de un presumible hecho delictuoso, pero presenta problemas si se le requiere adjudicar la responsabilidad ⁽²⁵⁾.

En 1985 Alec Jeffreys genetista de Leicester Inglaterra, vio la manera de utilizar el DNA como una herramienta para caracterizar personas, logrando descubrir regiones polimórficas que varían entre ellas, surgiendo así el análisis de los fragmentos de restricción polimórficos o RFLP y los VNTR.

4.2.- Método de análisis de un marcador genético.

El análisis debe de ser:

- Exacto, rápido y de ejecución simple.
- Detección clara
- Diferencias cualitativas entre los alelos.
- Consumo pequeño de la muestra.

Características que debe presentar un marcador genético:

- Herencia independiente de otros marcadores analizados.
- Polimorfismo con un alto grado de heterocigocidad.
- Conocer cómo están distribuidas las frecuencias genotípicas y alélicas en la población ⁽²⁴⁾.

4.3.- Selección de un marcador genético con aplicación forense.

Los marcadores genéticos útiles en la identificación de individuos deben tener como común denominador que estén presentes desde el nacimiento, no se modifican en el transcurso de la vida y que su expresión prácticamente no sea modificada por el ambiente, así como:

-Unidad de herencia.- La unidad de herencia o gen se transmite intacta a través de generaciones.

-Segregación alélica.- un par de genes (uno procedente del padre y otro de la madre) nunca se encuentra en el mismo gameto sino que siempre se heredan por separado en dos gametos diferentes.

-Herencia independiente.- Los diferentes pares de genes se heredan independientemente unos de otros, si esto no sucede se dice que los genes están ligados o que existe un desequilibrio de asociación entre ellos y deben ser considerados como una unidad de herencia ⁽³⁾.

Siguiendo a Thompson y Thompson la utilidad de un estudio genético de un marcador viene determinado por las siguientes características:

- 1.- Un único e inequívoco sencillo patrón de herencia.
- 2.- Una exacta clasificación de los diferentes fenotipos por técnicas reproducibles y fiables.
- 3.- Una alta frecuencia relativa de cada uno de los alelos comunes en el locus.
- 4.- Ausencia de factores ambientales, edad, interacción con otros genes u otras variables en la expresión de la característica ^(1, 3).

4.4.- Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Para poder llevar a cabo la tipificación de los sistemas de identificación forense, es necesario amplificar las secuencias específicas de DNA correspondientes por medio de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR por sus siglas en ingles). Este método fue descrito por Kary Mullis, y originalmente aplicado por un grupo en el Departamento de Genética Humana de Cetus para la amplificación de la secuencia β -globina y para el diagnóstico prenatal de anemia de células falciformes ⁽²⁶⁾.

La PCR es un método *in Vitro* para la síntesis enzimática de secuencias específicas de DNA, utilizando dos "primers" que hibridan en las cadenas opuestas flanqueando la región de interés en la cadena de DNA. Una serie repetitiva de ciclos de duplicación envuelve la desnaturalización, alineación y la extensión de los oligonucleótidos por la DNA polimerasa, que resulta en una acumulación exponencial de fragmentos específicos. Debido a la polimerización del primer unido a una cadena simple de DNA, esta nueva cadena sirve como base para el próximo, dando un número doble de copias de DNA en cada ciclo, aumentando el número de copias de manera exponencial. Por lo tanto en 20 ciclos de la PCR producirán cerca de 1 millón de copias ⁽²⁶⁾.

Un ciclo de la PCR presenta los siguientes pasos:

DESNATURALIZACIÓN.- Consiste de una incubación a 94 ° C durante 1 a 2 minutos lo que produce la separación de la doble hélice.

ALINEACIÓN DEL PRIMER.- Se permite la unión del primer a su secuencia complementaria en un período de tiempo de 30 segundos a 1 minuto a una temperatura de 55° C a 65° C, dependiendo del primer.

EXTENSIÓN DEL PRIMER O POLIMERIZACIÓN.- La temperatura desciende a 72°C de 1 a 2 minutos para permitir la actividad de la DNA polimerasa, generando una nueva cadena de DNA a partir del complejo DNA - "primer" duplicando la secuencia de interés.

Durante el proceso se van generando millones de copias del producto. Los tres eventos anteriores forman un ciclo de amplificación el cual se puede repetir de 30 a 50 veces ⁽²⁶⁾.

CAPÍTULO V.- SISTEMAS GENÉTICOS DE IDENTIFICACIÓN FORENSE

5.1.- HLA DQA1

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) contiene los genes en donde está codificada la información para la síntesis de los antígenos de histocompatibilidad. Se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y se divide en tres regiones en base a las características estructurales y funcionales de los productos de sus genes que constituyen lo que se conoce como sistema HLA (Antígenos leucocitarios humanos). Las proteínas y polimorfismos del complejo HLA están perfectamente caracterizados serológicamente, así como su patrón de herencia mendeliana, son frecuentemente utilizados en la identificación de individuos y particularmente en la determinación de la paternidad.

Los genes de las regiones I y II expresan un polimorfismo muy elevado. Todos los genes HLA son codominantes o sea que los dos alelos de cada gene se expresan simultáneamente, esto significa que cada persona posee, sobre la membrana de sus células, dos conjuntos completos de antígenos de histocompatibilidad, uno paterno y otro materno. En la región I del MHC humano están las subregiones A, B y C, en la región II están localizadas las subregiones DP, DQ y DR, las moléculas de histocompatibilidad Clase II son glicoproteínas que, por lo general, sólo se encuentran en la membrana de los linfocitos B, linfocitos T activados y de los fagocitos mononucleares u otras células que, en una forma aberrante y transitoria, funcionan como células presentadoras de antígenos (APC) ⁽²⁷⁾. Cada proteína del HLA clase II esta formada de 2 subunidades una es la α con 33 KD y la más pequeña llamada β con 28 KD. Los genes de la clase II, son polimórficos en las poblaciones humanas, en la región DQ la mayor variabilidad se encuentra en el dominio α .

Patentado por la compañía norteamericana Perkin-Elmer Cetus, el HLA DQ α es el primer sistema disponible para el análisis forense mediante la amplificación de DNA por PCR. La Organización Mundial de la Salud y el comité de Nomenclatura del HLA denomina actualmente al locus DQ α como DQA1. El tipo de polimorfismo que presenta este sistema es de secuencia ya que únicamente hay un cambio de par de bases en la secuencia de cada alelo. La variación es detectada usando sondas moleculares, las cuales son fragmentos de DNA complementarios y se usan como primer de regiones específicas para esta región del sistema mayor de histocompatibilidad humana (HLA). (18).

En el primer sistema HLA DQ α se identificaron 6 alelos por secuenciación, los cuales se dividen en cuatro tipos principales 1, 2, 3 y 4, presentando subtipos el alelo 1 (1.1,

1.2 y 1.3), el sistema actual HLA-DQA1 cuenta con 7 alelos y presenta los mismos subtipos del alelo 1 y además el alelo 4 (4.1 y 4.2/4.3).

El Kit que se utilizó en el presente trabajo fue el HLA-DQ α , que detecta únicamente los siguientes alelos: 1.1, 1.2, 1.3, 2, 3 y 4.

Los genotipos posibles que se pueden observar con los seis alelos, esta determinado por la siguiente ecuación:

$$\text{Genotipos} = (n^2+n)1/2 = (6^2+6) 1/2 = 21 \text{ genotipos}$$

donde n = numero de alelos presente en el sistema.

Una de las ventajas del sistema es su capacidad para analizar muestras muy pequeñas y degradadas ya que únicamente se necesitan para la amplificación por PCR de 2 a 10 ng. a diferencia de la técnica de Fragmentos de restricción polimorfica de longitud RFLP (por sus siglas en ingles) en donde se necesitan cantidades grandes como 50 ng de DNA de alto peso molecular (28).

El sistema comercial AmpliType HLA-DQ α incluye reactivos para la amplificación de fragmentos específicos polimórficos, la longitud del producto amplificado por medio de la PCR es de 242 pares de bases para los alelos 1 y 3 y para los alelos 2 y 4 es de 239 pb. La tipificación se realiza mediante la técnica de hibridación reverso de dot blot no radiactiva del DNA amplificado por PCR con las secuencias específicas para cada alelo que se encuentran fijadas covalentemente a la membrana de hibridación (29, 30, 31).

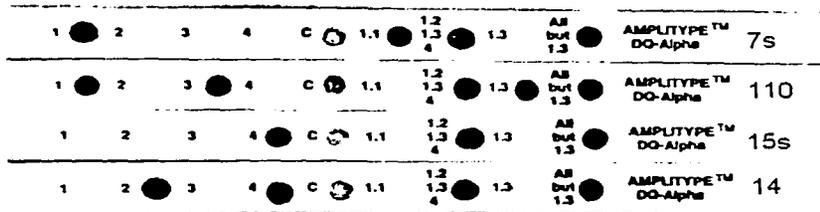


Figura 1.- Sistema HLA-DQ Alpha

En la figura 1 se observa que la muestra marcada como 7s presenta el genotipo 1.1, 1.2, para la muestra 110 el genotipo 1.3, 3, para la muestra 15s el genotipo 4,4 y para la muestra 14 el genotipo 2,4.

Para poder interpretar las membranas de hibridación es necesario tomar como referencia el punto C que es un control de amplificación, ya que los más intensos o iguales a este se toman como positivos y los más débiles no se interpretan. (ver metodología, paso número 8).

Un total de 9 sondas están presentes en cada tira de hibridación. Hacia la izquierda del punto C se encuentran las sondas de los alelos nominales 1, 2, 3 y 4 y a la derecha se localizan las sondas de los subtipos del alelo 1 (1.1, 1.2 y 1.3) (28, 29, 32).

El poder de discriminación para el valle de México es de 0.862, lo que significa que el sistema tiene una probabilidad del 86% para diferenciar a dos individuos tomados al azar en una misma población (33).

5.2.- POLYMARKER

Este sistema es una expansión de la técnica utilizada para el análisis del HLA DQA1, fue desarrollado con varios marcadores (polimarcador) localizados en diferentes cromosomas y presenta un polimorfismo de secuencia, ya que la diferencia entre los alelos es únicamente en el cambio de una base. AmpliType PM es capaz de amplificar simultáneamente regiones específicas de 6 loci genéticos: HLA DQA1 (es un control de amplificación y se encuentra en la membrana de hibridación como "S", Receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR), Glicoforina A (GYPA) y D7S8 loci que presentan dos alelos posibles A y B, los loci Hemoglobina G Gamaglobina (HBGG) y componente específico de grupo (Gc) presenta tres alelos posibles A, B y C.

La membrana de hibridación presenta 13 sondas específicas, para llevar a cabo la interpretación para este sistema es necesario basarse en el punto S que es un control de amplificación del locus HLA DQA1, los puntos más intensos o iguales a este se toman como positivos y los más débiles no se interpretan. (28, 32).

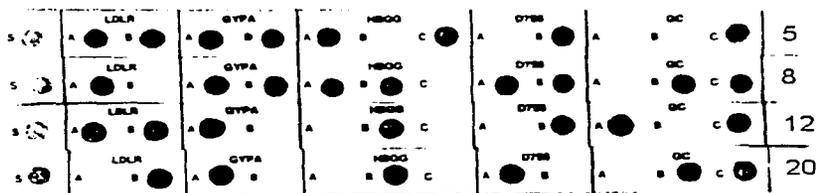


Figura 2.- Sistema Polymarker

En la figura 2 la muestra número 5 presenta el siguiente genotipo: para locus LDLR-AB, para locus GYPA- AB, para el locus HBGG - AC, para el D7S8 - BB y para GC - CC.

Por separado los loci de este sistema no tienen mucha variación como se reporta para el Valle de México con un Índice de Contenido Polimórfico, para LDLR 0.3741, GYPA 0.3444, HBGG 0.3565, D7S8 0.3601 y GC 0.5534, no obstante el resultado se reporta como sistema y se pueden identificar 972 genotipos. El poder de discriminación del sistema es de 0.9949 para el Valle de México. Al igual que el HLA-DQA1 este sistema se hereda de forma codominante (30, 34).

5.3.- REVERSO DOT BLOT.

La tipificación de los 5 loci del sistema Polymarker y HLA DQA1 se lleva a cabo mediante la técnica de hibridación reverso de dot blot no radiactivo del DNA amplificado por PCR complementario con las secuencias específicas para cada alelo fijadas covalentemente en tiras de nylon y/o membranas de hibridación.

Los primers o cebadores utilizados durante la amplificación por PCR para los dos sistemas están marcados con biotina, la cual se encuentra unida covalentemente al extremo terminal 5'. El producto final de la PCR, se somete a una temperatura de 95°C para desnaturalizar el DNA amplificado, para posteriormente adicionarlo a las membranas de hibridación, las cuales presentan fijadas las secuencias específicas complementarias para cada alelo, lo que permitirá en condiciones adecuadas de astringencia y pH la unión de ambas partes complementarias. Después de que se han unido complementariamente el producto de PCR y las secuencias específicas fijadas en la membrana de hibridación, se adiciona un conjugado (HPR) compuesto por Estreptoavidina y peroxidasa. La molécula de biotina presenta gran afinidad, con la proteína Estreptoavidina y está a su vez se encuentra unida a la enzima peroxidasa. Posteriormente en el paso desarrollo de color se determinan los alelos que están presentes en la muestra, en donde se utiliza peróxido y tetrametil-bencidina (TMB) que en su estado reducido es incoloro. El oxígeno resultante de la reducción del peróxido permite la oxidación del (TMB) dando como resultado un precipitado azul en forma de punto, indicando la presencia de los alelos en nuestras muestras, obteniendo de esta manera el genotipo para cada sistema. (28, 35, 36).

5.4.- D1S80.

El locus D1S80 fue identificado por la sonda pMCT118, se encuentra localizado en el cromosoma número uno y contiene una secuencia base (core) de DNA de 16 pares de

bases que se repite de 13 a 41 veces y >41. Se incluye dentro de los VNTR, también llamados minisatélites. Este sistema se hereda de manera codominante ⁽³⁷⁾.

Cada alelo está determinado por el número de veces que se repite la secuencia base (core) de esta forma el alelo 14 de este sistema se denomina así, debido a que la secuencia base se repite 14 veces, siendo lo mismo para el alelo 16 hasta el 41 y >41. El locus D1S80 posee una gran variabilidad alélica, ya que se han encontrado hasta el momento 30 alelos que definen 465 genotipos, observándose con una frecuencia muy baja el alelo 14 y la existencia del alelo 13 en Kacharis población al norte de India ^(37, 38, 39, 40).

El poder de discriminación del sistema es de 0.80 para el Valle de México ⁽⁴¹⁾.

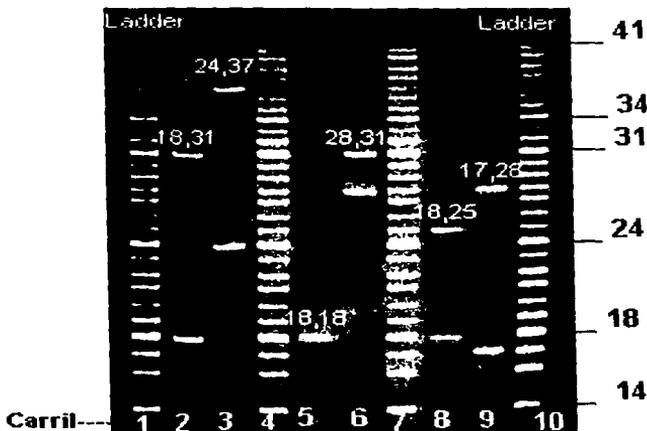


Figura 3.- Sistema D1S80

En la figura número 3 se presenta el corrimiento electroforético del sistema D1S80, observándose en el carril 1, 4, 7 y 10 la escalera alélica o ladder que se utiliza como referencia para poder tipificar las diferentes muestras, por ejemplo en el carril 2 se observa el genotipo 18, 31 y en el carril 9 se observa el genotipo 17,28.

En la tabla número I se presenta un resumen de las características más importantes de los tres sistemas.

Tabla No. I.- Características de los 3 sistemas genéticos con aplicación forense.

Locus		Localización en el Cromosoma	Producto de PCR (pb)	Número de alelos
HLADQA1		6	239/242	6
P O L Y M A R K E R	LDLR	19	214	2
	GYPA	4	190	2
	HBGG	11	172	3
	D7S8	7	151	2
	GC	4	138	3
DIS80		1	196 a 672	30

CAPÍTULO VI.- APLICACIÓN DE LOS TRES SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN FORENSE.

La identificación de personas es uno de los objetivos más importantes dentro de la Criminalística la cual constituye la sintética unificación de conocimientos y técnicas que permiten llevar a cabo una investigación y examen de indicios para estar en posibilidad de señalar la presunta responsabilidad de quien o quienes realizaron algún acto delictuoso concluyendo lógica y razonadamente todo un proceso indagatorio ⁽⁴²⁾.

Hay principios que hacen válido el método que aplica la Criminalística por ejemplo:

1.- Principio de intercambio, apuntado por Edmond Locard investigador francés, donde señala que al cometerse un delito se realiza un intercambio de material sensible significativo o indicio entre su autor y el lugar de los hechos, cuyo estudio permite reconstruirlo, identificar a su(s) autor(es) y establecer su participación.

2.- Principio de correspondencia de característica.- Nos permite deducir, siempre que encontramos una correspondencia de características, después de haber realizado un cotejo minucioso que: dos impresiones dactilares, dos pelos, dos manchas de sangre, semen etcétera corresponden a la misma persona.

3.- Principio de reconstrucción de fenómenos o hechos. Nos permite inferir, mediante el estudio del material sensible significativo encontrado en el lugar de los hechos y tomando en consideración su ubicación, naturaleza, cantidad, morfología, etcétera, cómo se desarrollaron dichos sucesos ⁽⁴³⁾.

La identificación, es un proceso mediante el cual se recogen y agrupan sistemáticamente los caracteres distintivos de un sujeto, también sumándose a este proceso aspectos como la religión, la cultura, el económico etcétera. Pero ¿qué es la identidad?

1.- La identidad es el conjunto de caracteres que sirven para distinguir a un sujeto de los demás de la especie e individualizarlo ⁽⁴⁴⁾.

2.- identidad es el conjunto de caracteres físicos que individualizan a una persona, haciéndola igual a sí misma y distinta de todas las demás y 3.- Edmond Locard define la identidad como la cualidad o conjunto de cualidades que posee una cosa que la diferencia de todas las demás. ⁽⁴⁵⁾

Tratándose de la identificación judicial, es decir, de delinquentes o de personas que han estado sujetas a proceso, se requiere datos más precisos, de caracteres

invariables o poco variables, que agrupados en forma especial constituyen los sistemas de identificación judicial⁽⁴⁴⁾.

La necesidad de individualizar a las personas se hizo más patente en el campo de la procuración de justicia debido al crecimiento de la delincuencia y a la reincidencia de los delincuentes por lo que se ha requerido de la creación de procedimientos fiables para su identificación. El problema se ha ido resolviendo utilizando los medios tecnológicos y científicos disponibles en cada época de la humanidad, dividiendo la identificación con fines judiciales en tres etapas: la primera se denomina equívoca o bárbara en donde se utilizó la mutilación y marcas en las personas, la segunda etapa denominada empírica se distingue fundamentalmente por la aplicación del método descriptivo, en el cual se describen las características fisonómicas del delincuente y en 1837 se suma la fotografía como medio de identificación y la tercera etapa se denomina científica que se desarrolla a partir de 1882 en la cual Alfonso Bertillón introduce la Antropometría y el retrato hablado que junto con la fotografía complementan su archivo de identificación en la Policía de París.

Sin embargo la antropometría pasó a segundo término, dando paso a la Dactiloscopia, sistema de identificación por excelencia que reúne las cualidades de inmutabilidad, permanencia y variedad infinita, propuesto por Sir Francis Galton en Inglaterra en 1891.

En Argentina Juan Vucetich basándose en los estudios anteriores creo un archivo decadactilar, que permitió la utilización de las impresiones en la práctica de la identificación, sistema de clasificación, que es usado actualmente.

Casi paralelamente a los trabajos de Vucetich, surge otro método de identificación: la sangre, Karl Landsteiner en 1901 descubre como producto de sus observaciones la existencia los grupos sanguíneos del Sistema ABO que son hasta la fecha los grupos antigenicos de sangre humana más importantes. Von Dungern y Hirschfeld 1909 - 1910 proponen que su transmisión es hereditaria y en 1939 Wiener descubre el Sistema Rhesus (Rh).

Otras disciplinas que intervienen en la identificación de individuos son la Odontología Forense que utiliza la ficha odontolegal y la Antropología Forense que actualmente desarrolla el proyecto "El rostro del mexicano" el cual ayudará en el examen médico de cadáveres y tiene que ver con todo lo que permite la identificación física, la somatología de las personas que abarca desde las mediciones de los huesos, estatura, tejido adiposo, tipo de cabello, piel y nariz, en resumen es un análisis de la variabilidad fenotípica de los rasgos faciales que incluye datos métricos, morfológicos y pigmentarios^(3, 43, 45).

La transmisión hereditaria de diversas características personales es una idea antigua, pero su utilización científica con finalidad de identificación es relativamente reciente. Durante el siglo XX se describieron métodos basados en sistemas polimórficos que incluyen antígenos eritrocitarios, proteínas séricas, enzimas sanguíneas y antígenos leucocitarios humanos (HLA).

El desarrollo científico en el área de la biología molecular ha permitido la aplicación de nuevas tecnologías aumentando la capacidad de identificar individuos e indicios cada vez más pequeños, como lo es la tecnología del DNA utilizada por primera vez por Alec Jeffreys en el año de 1985 para la resolución de un caso de inmigración de un joven procedente de Ghana y dos años después en la identificación de un violador en donde los métodos serológicos clásicos no pudieron lograr una individualización suficiente con los indicios biológicos obtenidos de las víctimas. A partir de ese momento se ha ido generalizando su uso y se ha pasado de sólo poder analizar determinados fragmentos de DNA de una longitud relativamente grande a analizar pequeñas regiones procedentes de indicios mínimos mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

El análisis del DNA por medio de marcadores genéticos representa una herramienta de trabajo muy confiable, esta tecnología se basa en la amplificación mediante PCR y la caracterización de regiones variables o polimórficas del material genético de los individuos (DNA) y es conocida como " huella digital del DNA". Este gran avance permite la identificación de cadáveres, de delincuentes involucrados en violaciones y crímenes, en comprobaciones de paternidad, en identificaciones de parentesco, en las relaciones étnicas de estudios antropológicos etcétera ⁽⁴⁶⁾.

Los indicios son elementos claves en la investigación de muchos crímenes por ejemplo en violaciones o asaltos donde se pueden encontrar líquido seminal, sangre, cabellos, saliva etcétera. En casos de homicidio, la sangre de la víctima puede encontrarse en las ropas del presunto responsable o en el arma de éste. El fin de un análisis de DNA es determinar el genotipo o perfil genético mediante la tipificación de marcadores genéticos polimórficos para ver si la evidencia proviene de un individuo en particular, de la víctima o del sospechoso ⁽²⁴⁾.

El genético danés Johanssen en 1911 introdujo la importante diferencia entre genotipo y fenotipo. El fenotipo de un organismo es el aspecto, morfología y fisiología que podemos observar, es la suma de todos sus caracteres, tales como color, la forma, el tamaño, el comportamiento, la composición química y la estructura tanto externa como interna. El genotipo es la suma total del material hereditario es la constitución genética que recibe un organismo de sus progenitores. El fenotipo cambia continuamente a lo largo de la vida de un organismo, desde el momento de su

concepción hasta su muerte. El genotipo, sin embargo, permanece constante con la excepción de algunas mutaciones ocasionales ^(2, 47).

Si el genotipo encontrado en la evidencia no es igual al genotipo del individuo cuestionado, puede ser excluido como donador del fluido biológico encontrado en el lugar de los hechos con una gran certeza. Si el genotipo del individuo concuerda con el de la evidencia se puede decir que es posible que presenten un origen común. El compartir el mismo genotipo no constituye una identificación total ya que algunos individuos de la población presentan el mismo genotipo para el marcador genético estudiado, por lo tanto entre más marcadores se utilicen hay más probabilidad de encontrar diferencias entre los individuos ⁽²⁴⁾.

Como se puede ver el utilizar nuevas tecnologías como la tipificación del DNA, la cual se desarrolla actualmente en el Laboratorio de Genética Forense de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, empleando diferentes sistemas genéticos como: HLADQA1, Polymarker, DIS80, STRs (Cofiler, Profiler Plus) ha permitido analizar indicios cada vez más pequeños a diferencia de las primeras técnicas como los RFLP, siendo posible determinar a quien pertenece una muestra.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La población humana se divide en razas, que a su vez se subdividen en comunidades lingüísticas, políticas, económicas, religiosas y en otros grupos dentro de los cuales, los cruzamientos entre sí son más frecuentes que entre individuos de diversos grupos.

La población mexicana se formó básicamente a partir de 3 razas fundamentalmente a saber: los indígenas, los españoles y en menor proporción la raza negra, dando origen a una población heterogénea ^(2, 12, 14). Ha existido una migración desde hace mucho tiempo, de diferentes comunidades de otros continentes a México por ejemplo: los alemanes, franceses, italianos, árabes, libaneses, orientales etcétera que se encuentran extendidos dentro del territorio nacional, así como, comunidades que por los factores arriba mencionados no han llevado a cabo un intercambio genético con la población mexicana o personas ajenas a estas comunidades como los Menonitas que se encuentran principalmente en Chihuahua desde los años 20's y la comunidad judía, que desde sus orígenes, como expresión religiosa han sido objeto de una infinidad de destierros, resultando que sus miembros se encuentren dispersos por todo el mundo y México no es la excepción ^(5, 8, 9).

La inmigración de comunidades de otros continentes, puede representar un importante aporte de variabilidad genética a la población mexicana, aunque no exista una mezcla genética como es el caso de los judíos. La comunidad judía establecida desde hace mucho tiempo en nuestro país, forma parte ya de nuestra población, tiene un intercambio genético reducido, por lo que representa un interesante ejemplo para conocer sus frecuencias alélicas y genotípicas para los 3 sistemas genéticos de aplicación forense, con el fin de complementar el banco de datos del Laboratorio de Genética Forense de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal.

Los individuos de un grupo o comunidad son variables tanto genotípica como fenotípicamente y presentan diferencias en la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas de algunos marcadores genéticos.

JUSTIFICACIÓN.

Para utilizar una serie de marcadores o sistemas genéticos con el fin de identificar individuos, es importante conocer como se distribuyen las frecuencias genotípicas y alélicas de éstos en la población ⁽²⁴⁾, por lo que es necesario realizar un muestreo contemplando a la mayoría de los integrantes de la población mexicana, tomando en cuenta que existen comunidades formadas por individuos de padres, abuelos etcétera, que no son de origen mexicano. Por lo anterior se piensa que es de gran interés

realizar un estudio en la comunidad judía con los 3 sistemas genéticos de aplicación forense, ya que no se han reportado las frecuencias alélicas y genotípicas de esta comunidad con el objeto de formar un Banco de datos de los diferentes marcadores genéticos con aplicación forense ya que en conjunto confieren un gran poder de discriminación y de esta manera se podrá identificar con un alto grado de confiabilidad a un individuo.

Al no poder excluir a una persona como el posible padre o hijo biológico o bien a un probable violador u homicida se necesitan comparar las características genéticas halladas en el individuo, implicado en el estudio, en relación con las frecuencias de las mismas características en la población general, para saber que probabilidad se tiene de encontrar un hombre con iguales características genéticas a las que debería tener el padre o hijo biológico o la persona relacionada con un hecho delictuoso (3, 21, 28). Dada la necesidad de establecer esta comparación es importante conocer las frecuencias con las que se presentan los alelos y su distribución en nuestra población de los diferentes marcadores genéticos, ya que es altamente probable la existencia de diferencias en cuanto a su distribución dentro las diferentes comunidades humanas.

El fin de trabajar con la comunidad judía, es contar con datos genéticos de individuos mexicanos de padres y abuelos en su mayoría extranjeros que por su costumbre de relacionarse únicamente con individuos de la misma religión, no ha existido una mezcla genética importante con nuestra población, por lo que se piensa que esta comunidad ha manteniendo sus frecuencias alélicas y genotípicas al paso de las generaciones, siendo diferentes a las de la población mexicana, debido a sus diversos orígenes.

Por lo anterior, es importante estudiar la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de los tres sistemas de aplicación forense en la comunidad judía radicada en el Distrito Federal y compararlas con las frecuencias del Valle de México con el fin de ver si existe alguna diferencia, como en el caso del sistema sanguíneo ABO que presenta los siguientes porcentajes para la Comunidad Judía (Ashkenasis y Sefarditas): para el grupo O - 37 %, A - 38.2 %, B - 16.2 % y AB - 8.6 %, contrastando claramente con los reportados para la Ciudad de México (14).

OBJETIVO GENERAL.

Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de los sistemas de identificación forense HLADQA1, Polymarker y D1S80 de la comunidad judía del Distrito Federal contra las frecuencias del Valle de México, para establecer si existe alguna diferencia.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- 1.- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de la comunidad judía nacida en el Distrito Federal de padres y abuelos en su mayoría extranjeros, que se han integrado a nuestra población.
- 2.- Analizar la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la comunidad Judía del D.F. y establecer si la migración de la comunidad modifica las frecuencias del Valle de México que forman parte de la base de datos que actualmente se utiliza en el laboratorio de Genética Forense de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal; siendo necesario el manejo de los resultados de ambas poblaciones por separado.
- 3.- Generar un banco de datos de los sistemas HLA-DQA1, Polymarker y D1S80 contemplando a la mayoría de los integrantes de población del Distrito Federal, tomando en cuenta su origen antropológico.

HIPÓTESIS

Las comunidades extranjeras que han migrado a nuestro país desde hace mucho tiempo, se han mezclado e integrado a la estructura de la población mexicana permitiendo de este modo que exista variabilidad genética. Como consecuencia de sus creencias y principalmente por su religión comunidades como la judía han mantenido una especie de aislamiento, ya que únicamente se relacionan con individuos con las mismas costumbres, por tal motivo tienen un intercambio genético reducido. Lo anterior nos hace pensar, que las frecuencias alélicas y genotípicas de la comunidad judía para los tres sistemas genéticos con aplicación forense, se han mantenido constantes y diferentes a las frecuencias del resto de la población de origen totalmente mexicano.

HIPÓTESIS NULA.- La distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas de la comunidad judía del D. F. son iguales a las del Valle de México.

HIPOTESIS ALTERNA - La distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas de la comunidad judía del D. F. son diferentes a las del Valle de México.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

TIPO DE ESTUDIO

- Observacional
- Prospectivo
- Transversal
- Comparativo

POBLACIÓN

- La población de estudio consistió de 117 personas, sin ningún parentesco entre ellas.
- Las muestras biológicas de cada individuo que se sometieron al estudio fueron Sangre o Saliva.
- Las muestras se recolectaron de individuos que viven y nacieron en el Distrito Federal, manteniendo la identidad de los voluntarios en total anonimato.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Se incluyeron a personas pertenecientes a la comunidad judía nacidas en el D. F. , descendientes de padres y abuelos en su mayoría extranjeros, sin importar edad y sexo.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- No se analizaron muestras provenientes de personas que refieran parentesco biológico entre ellos, o de personas que no hayan nacido en el D.F.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Muestras que no rindan la suficiente cantidad de material genético para realizar el estudio.
- Muestras que al momento de ser analizadas muestren rastros de material biológico procedente de más de una persona.

CAPÍTULO VII.- METODOLOGÍA

1.- Recolección de muestras.

Se realizó un muestreo de forma aleatoria en dos Consultorios Médicos y dos Laboratorios Clínicos Particulares, en donde se obtuvieron la mayoría de las muestras, el resto se recolectaron con diferentes personas de la Comunidad judía del D.F.. A cada una de las personas que integran el estudio se les aplicó una encuesta en la cual se solicitan los siguientes datos: Nombre (opcional), Grupo Sanguíneo, Lugar de Nacimiento de los padres, Lugar de Nacimiento de los Abuelos maternos y paternos.

Las 117 muestras obtenidas consistieron de sangre y saliva. Las muestras sanguíneas fueron tomadas en tubos vacutainer con EDTA como anticoagulante con capacidad de 5 ml. Las muestras de saliva se colectaron en tubos de plástico con capacidad de 50 ml. estériles, a los que se les agregaron 3 ml. de alcohol al 96° para conservar y fijar la muestra, posteriormente cada persona depositó aproximadamente 2 ml. de saliva.

2.- Determinación del grupo sanguíneo del sistema ABO.

El grupo sanguíneo de los individuos que no lo proporcionaron en la encuesta, se determinó mediante antisueros específicos A, B, y D (para el factor Rh).

3.- Extracción del DNA.

Se utilizaron 2 técnicas para la extracción del DNA de las muestras sanguíneas, la primera nombrada LIFE-CODES descrita en el manual de trabajo de Perkin Elmer y la segunda empleando Chelex al 5%, que es una resina quelante de iones metálicos divalentes con un pH 11. ^(36, 48, 49) (Ver anexo B)

4.- Cuantificación del DNA en gel de agarosa.

La cuantificación del DNA se realiza mediante una electroforesis, técnica de separación que se basa en el transporte de partículas cargadas bajo la acción de un campo eléctrico. El soporte que se utilizó es la agarosa la cual carece de grupos cargados y las partículas colocadas sobre ella se separan únicamente en función de su carga eléctrica, y pueden moverse libremente en la misma. Para la cuantificación del DNA extraído de sangre o saliva se realizó en un gel de agarosa al 1%. (ver anexo B).

5.- Amplificación mediante PCR de los 3 sistemas genéticos de identificación forense utilizados en el estudio.

La PCR se llevó a cabo en un termociclador 480 Perkin Elmer utilizando los kits comerciales AmpliType[®] PM, AmpliType HLADQ alpha y AmpliFLP[™] D1S80 (ver anexo B sección reactivos). Las condiciones de amplificación de los tres sistemas de identificación Forense se describen en el anexo B.

6.- Hibridación por reverso de dot blot para la obtención de genotipos en los sistemas HLADQA1 Y Polymarker.

Para la obtención de los genotipos de ambos sistemas se utilizan las membranas de hibridación de nylon, las cuales tienen fijadas las sondas específicas de oligonucleótidos (SSOP) para cada alelo y complementarias de las secuencias amplificadas por medio de la PCR. (ver anexo B)

7.- Obtención de los genotipos del sistema D1S80.

La obtención de los genotipos para este sistema, se realiza por medio de la técnica de electroferesis en gel de poliacrilamida (PAGE) ⁽³⁸⁾ que se corre en una cámara vertical (ver anexo B). Para interpretar los alelos presentes en cada muestra se realiza una comparación utilizando como referencia un ladder o patrón alélico de bandas con un peso molecular conocido, integrado por 27 alelos o bandas que empiezan a partir del alelo 14 no existiendo el 15 hasta el 41 y >41, posteriormente se realiza la comparación visual.

8.- Interpretación de los genotipos para los sistemas HLADQA1 Y Polymarker.

Los alelos presentes en las diferentes muestras para los sistemas HLADQA1 y Polymarker se tipificaron exclusivamente por la reacción positiva (punto azul) en la posición de cada sonda específica en la membrana de hibridación.

Sistema HLADQA1

Un punto azul en el 1 indica la presencia en la muestra de cualquiera de los subtipos (1.1, 1.2 y 1.3), un punto en el 2 indica la presencia del alelo 2, un punto en el 3 indica la presencia del alelo 3, un punto en el 4 indica la presencia del alelo 4, un punto en el 1.1 indica la presencia del alelo 1.1 y un punto en el 1.3 indica la presencia del alelo 1.3.

La sonda número 7 de izquierda a derecha en la membrana de hibridación presenta una reacción simultánea que confirma la presencia de los alelos 1.3 y/o 4 y hace patente la

presencia del alelo 1.2, el cual no tiene una sonda específica, como cada uno de los alelos del locus DQA1. Si la muestra reacciona con la sonda simultánea, pero no hay puntos en los subtipos 1.1 y 1.3, el alelo 1.2 está presente en la muestra, la sonda llamada "All but 1.3" (todos menos el 1.3) reacciona con 20 de los genotipos del sistema a excepción del genotipo 1.3.1.3, por lo que no se observa el punto en esta sonda cuando es identificado. (28, 29, 32)

Sistema Polymarker

Un punto en A indica la presencia del alelo A.

Un punto en B indica la presencia del alelo B.

Un punto en C indica la presencia del alelo C.

9.- D1S80.

En este sistema como ya se mencionó anteriormente, el genotipo se interpreta mediante la comparación visual de las bandas del ladder o marcador alélico conocido y las bandas que presenta nuestra muestra.

10.- Análisis de resultados.

1.- Para obtener las frecuencias alélicas y genotípicas en los tres sistemas utilizados en el estudio, se utilizó el método de cuenta génica, que consiste en contar las veces que aparece un genotipo y dividirlo entre la n que es igual al tamaño de la muestra, de la misma forma se obtiene las frecuencias de los alelos pero se divide entre 2n.

2.- aplicación de la prueba de χ^2 (α 0.05 n-1 g.l.). Para calcular la χ^2 se utilizó la siguiente fórmula: $\chi^2 = \sum (o-e)^2/e$

Donde "o" es el número de veces que se observó el genotipo y "e" es el número de veces que se espera aparezca el genotipo. Para calcular los valores esperados se toman en cuenta las frecuencias alélicas y se utiliza la siguiente fórmula:

$$p^2 \text{ ó } 2pq (n) = \text{esperado}$$

en donde p^2 se utiliza para los genotipos homocigotos y $2pq$ para los genotipos heterocigotos y n = al tamaño de la muestra.

3.- Probar que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Para lo anterior se utilizó la prueba de Ji-cuadrada donde $\chi^2 = n(\text{FIS})^2$ (Nei, 1987)

en donde el Índice de fijación $F_{is} = 1 - (H_o/H_s)$, donde H_o es la heterocigocidad observada y H_s es la heterocigocidad.

4.- Análisis de Ji cuadrada para probar si existen diferencias significativas entre la Comunidad judía del D.F. y el Valle de México.

$$X^2 = 2n_x n_y \left(\sum_{i=1}^m \frac{(x_i - y_i)^2}{n_x x_i + n_y y_i} \right)$$

donde m es el número de alelos en el locus, n_x es el número de observaciones en el Valle de México, n_y es el número de observaciones en Judíos del D.F., x_i es la frecuencia alélica en el valle de México y y_i es la frecuencia alélica de judíos del D.F.

5.- Obtención de parámetros estadísticos útiles en el área forense.

Heterocigocidad (h)- es una medida de la variación genética por locus en una población. La heterocigocidad observada se define como el número de individuos heterocigotos observados respecto al total analizado. (15, 50)

$$\hat{h} = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

donde x_i^2 es la frecuencia alélica en un locus de m alelos.

Poder de discriminación (PD)- se define como la probabilidad de que dos individuos no relacionados y tomados al azar de una población, puedan ser diferenciados genéticamente mediante los marcadores analizados. (50, 51, 52) El PD se obtienen de la sumatoria de los cuadrados de las frecuencias genotípicas observadas de cada marcador de acuerdo a la siguiente formula:

$$PD = 1 - \sum P^2_i$$

donde $\sum P^2_i$ es la sumatoria de los cuadrados de las frecuencias de los genotipos.

Poder de exclusión (PE)- se define como la fracción o porcentaje de individuos que tienen un perfil genético que es diferente al de un individuo seleccionado al azar (53). Así una probabilidad de exclusión del 75% significa que, dados una madre y un hijo

biológico, aplicando las técnicas correspondientes, se descartará como posibles padres al 75% de los varones de la población. ⁽⁵⁰⁾

Poder de Coincidencia (PC), *Match* Probabilidad (PM), y/o Probabilidad de no-discriminación (PND) - Los tres términos se refieren a la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar tengan el mismo genotipo en una serie de sistemas genéticos o lo que es lo mismo, es el número de individuos que tienen que ser analizados antes de encontrar el mismo perfil genético. ^(50, 53, 54)

$$PC = 1 - PD$$

donde PD es el poder de discriminación.

Los cálculos de Poder de Exclusión y el poder de discriminación se obtuvieron por medio paquete estadístico PowerStats, distribuido por la compañía Promega.

CAPÍTULO VIII.- ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1 Lugar de Nacimiento.- Se obtuvieron un total de 117 muestras con sus respectivas encuestas, proporcionando la siguiente información: con relación al lugar de nacimiento o país de origen de los 117 padres y los 60 abuelos paternos y maternos se encontró lo siguiente:

Tabla II.- Lugar de nacimiento de los padres.

PAIS	MADRE	PADRE
MEXICO	59	52
RUSIA	10	10
POLONIA	10	15
SIRIA	8	7
ALEMANIA	5	9
ISRAEL	5	5
LIBANO	5	4
FRANCIA	4	2
TURQUIA	2	3
ESPAÑA	2	5
HUNGRIA	2	1
ARGENTINA	2	2
ITALIA	1	1
INGLATERRA	1	0
Estados Unidos de América	1	1

Como se observa en la tabla II, para el país de origen de la Madre encontramos con mayor frecuencia a México con el 50.427%, después a Rusia con 8.547%, Polonia con el 8.55%, Siria con 6.837%, Alemania, Israel y Libano con 4.273%, Francia con 3.418%, Turquía, España, Hungría y Argentina con 1.70% y con el 0.854% Italia, Inglaterra y E.U.A.

Para el país de origen del Padre encontramos con mayor frecuencia a México con el 44.44%, seguido de Polonia con el 12.820%, Rusia con 8.547%, Alemania con 7.692%, Siria con 5.982%, Israel y España con 4.273, Libano con 3.418%, Turquía con 2.564%, Francia y Argentina con 1.709% y Hungría, Italia, E.U.A. con 0.855%.

Tabla III.- Lugar de nacimiento de los abuelos.

MATERNOS Abuela/abuelo	PATERNOS Abuela/abuelo	TOTAL
Siria	Siria	11
México	Siria	2
Siria	México	1
México/Siria	México/Siria	1
México	México/Siria	1
Siria/México	México	1
Siria	Rusia	1
Siria/México	Siria	1
Polonia	Polonia	9
Polonia	Rusia	5
Polonia	Checoslovaquia	2
Polonia	Grecia	1
Polonia/Rusia	Austria	1
México/Polonia	Polonia	1
Polonia/México	Polonia	1
México	Polonia	1
Rusia	Rusia	2
Rusia	Polonia	5
Rusia/Hungría	Polonia	1
Rusia	España	1
Alemania	Alemania	1
Alemania	Rusia	1
Alemania	Israel	1
Francia	Francia	2
Turquía	Turquía	1
Turquía	Grecia	1
Bulgaria	Turquía	1
Bulgaria	Turquía/Francia	1
México	Cuba	1
México	México	1
***	Austria/Checosl.	1
Polonia	***	1
***	Líbano	1
***	Turquía	1
Polonia	***	1
Italianos	***	1
***	Rusia	1

***Datos no proporcionados en la encuesta.

En cuanto al origen de los abuelos Maternos/Paternos como se observa en la tabla III, encontramos el 18.333% para Siria/Siria, el 15.000% para Polonia/Polonia, el 8.333% para Polonia/Rusia y Rusia/Polonia, el 3.333% para México/Siria, Polonia/Checoslovaquia, Rusia/Rusia y Francia/Francia y con una frecuencia del 1.666% los países que se presentan una vez. En los resultados de las tablas II y III podemos encontrar que la mayoría de las muestras descienden de familias con una generación en México y que sus ascendientes migraron principalmente de Siria y Polonia.

8.2. - Sistema sanguíneo ABO.

En los resultados de la tabla IV el grupo sanguíneo más frecuente en la muestra aleatoria de la Comunidad judía del D.F. es el A con el 45.3%, seguido del O con un 30.7%, el B con un 16.2% y por último el AB con 7.7%. También se tomó en cuenta el factor Rh, encontrando 18 personas con un Rh negativo lo que representa el 15.38%, el resto 84.62% presentó el factor Rh positivo.

Población	A	B	O	AB	Rh +
Comunidad Judía	0.453	0.162	0.307	0.077	0.846
Valle de México	0.250	0.085	0.650	0.015	0.965

Realizando una comparación de las frecuencias de los grupos sanguíneos del sistema ABO, se observa que la distribución de las frecuencias es diferente en ambas poblaciones como se observa en la figura 4.

El grupo sanguíneo más común en la muestra de la Comunidad judía del D.F. fue el A con 45.3% contra 25% para la ciudad de México (estadística Cruz Roja 1987), para el grupo sanguíneo O se encontró para la Comunidad judía del D.F. 30.7% contra 65% para la ciudad de México, para el grupo sanguíneo B se encontró para la comunidad judía 16.2% contra 8.5% para la ciudad de México y por último para el grupo sanguíneo AB en la Comunidad judía del D.F. se observó un 7.7% contra 1.5% para la Ciudad de México

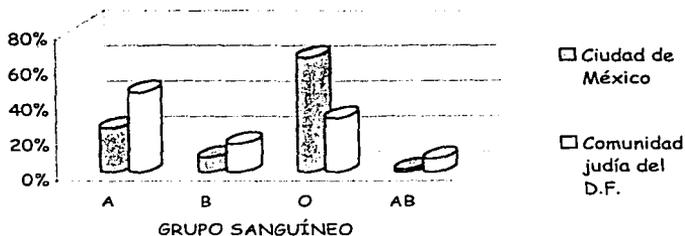


Figura 4.- Comparación del sistema sanguíneo ABO entre la ciudad de México y la Comunidad Judía del D.F.

8.3. - Sistema HLA-DQA1.

De los 117 integrantes del estudio únicamente se analizaron 112 individuos, debido a que se obtuvieron en algunas muestras en la etapa de hibridación más de dos alelos, lo que indica que la muestra se encontraba contaminada por lo que se eliminaron 5 muestras que representan un 4.3 %.

De los 21 genotipos posibles para este sistema únicamente se observaron 19, no identificándose los genotipos 2,2 ni 1.3,1.3, como se puede observar en la tabla número V.

Los genotipos más frecuentes en esta muestra son el 4,4 presentando una frecuencia observada de 0.1785, seguida en forma decreciente de los genotipos 3,4 y 1.1,4 con una frecuencia de 0.125, seguidos de los genotipos 1.2,4 - 1.1,3 - 2,4 - 1.3,4 - los demás genotipos presentan frecuencias bajas como es el caso del genotipo 1.1,2, 1.2,1.2, 1.2,1.3, 1.2,2 y por último 5 genotipos que únicamente se presentaron una sola vez con una frecuencia de 0.0089: 1.1,1.1 - 1.1,1.2 - 1.1,1.3 - 1.2,3 y 1.3,3.

Tabla V.- Distribución de las frecuencias genotípicas del sistema genético HLA DQA1 en 112 individuos de la Comunidad judía del D.F..

GENOTIPO	No. De individuos observados	Frecuencia observada	No. De individuos esperados	X ²
1.1, 1.1	1	0.0089	2.2838	0.7216
1.1, 1.2	1	0.0089	3.5697	1.8707
1.1, 1.3	1	0.0089	1.8552	0.3912
1.1, 2	4	0.0357	2.8532	0.4609
1.1, 3	10	0.0892	5.4250	3.8581
1.1, 4	14	0.125	13.7065	0.0062
1.2, 1.2	3	0.0267	1.3949	1.8469
1.2, 1.3	3	0.0267	1.4499	1.6572
1.2, 2	2	0.0178	2.2298	0.0236
1.2, 3	1	0.0089	4.2397	2.4755
1.2, 4	12	0.1071	10.7118	0.1549
1.3, 1.3	0	0	0.3767	0.3767
1.3, 2	2	0.0178	1.1588	0.6106
1.3, 3	1	0.0089	2.2034	0.6572
1.3, 4	6	0.0535	5.5670	0.0336
2, 2	0	0	0.8911	0.8911
2, 3	2	0.0178	3.3887	0.5690
2, 4	10	0.0892	8.5617	0.2416
3, 3	5	0.0446	3.2215	0.9818
3, 4	14	0.125	16.2788	0.3189
4, 4	20	0.1785	20.5645	0.0154

Total X² = 17.444

En valor de X² obtenido para este sistema fue de 17.444, siendo menor al valor crítico de tablas 31.41, con 20° de libertad y un α 0.05, lo que nos indica que los valores observados y esperados no presentan una diferencia significativa.

Con los resultados presentados en la tabla V se calcularon las frecuencias de los seis alelos del sistema HLA DQA1, obteniendo los resultados que se presentan en la tabla número VI, en donde se observa que el alelo más frecuente es el 4 seguido del alelo 3 y el 1.1, el alelo que se presentó con menos frecuencia fue el 1.3.

Tabla VI.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en el sistema genético HLADQA1 en 112 individuos de la Comunidad judía del D. F.

ALELO	OBSERVADOS	FRECUENCIA
1.1	32	0.1428
1.2	25	0.1116
1.3	13	0.0580
2	20	0.0892
3	38	0.1696
4	96	0.4285

n = 224

En la comparación alélica que se presenta en la figura 5 y en el anexo A tabla XIX se observa que existen diferencias entre las dos poblaciones con respecto a la distribución de las frecuencias de los alelos 1.1, 1.2, 1.3 y 2 siendo ligeramente más frecuentes en la Comunidad judía del D. F.

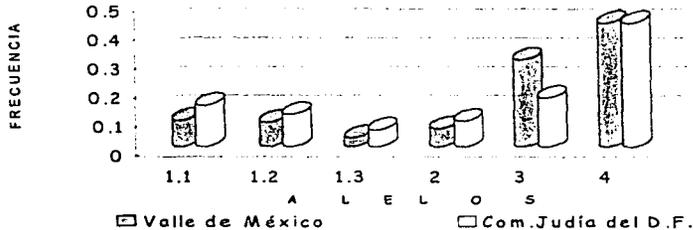


Figura 5.- Comparación de las frecuencias alélicas entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

Para el alelo 3 se observa que la distribución es mayor en la población del Valle de México (0.301) en comparación de la Comunidad judía del D.F. que presenta una frecuencia de 0.169. El alelo más frecuente en ambas poblaciones es el 4 y presenta la

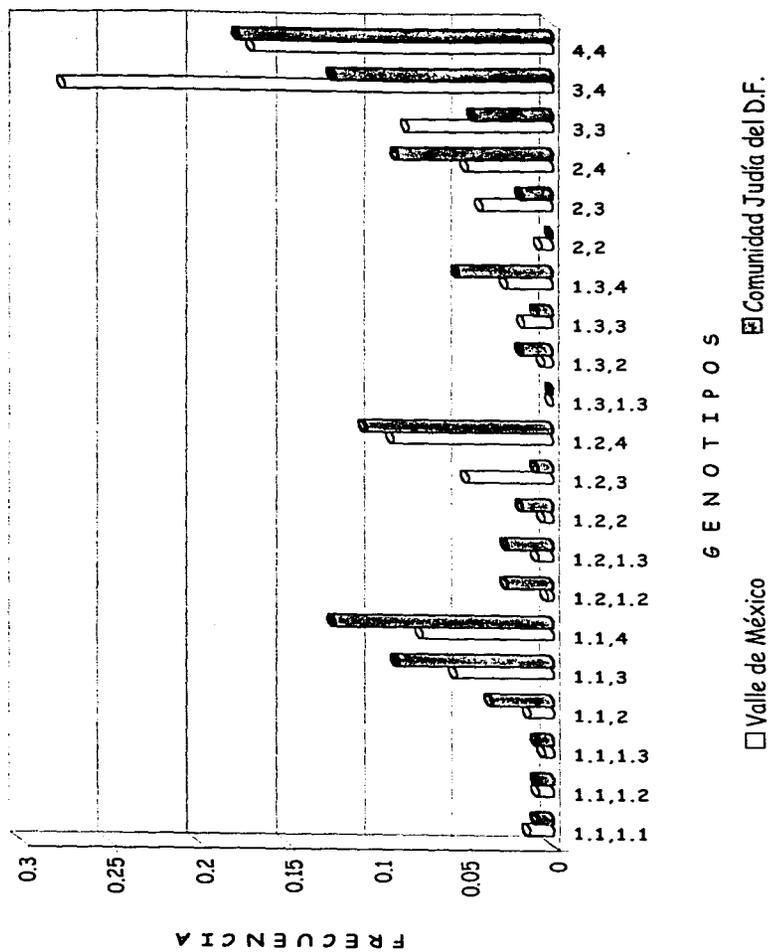


Figura 6.- Comparación de los genotipos del sistema HLA-DQA1 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

misma frecuencia alélica, siendo el único alelo de este sistema genético que no presenta diferencias entre las dos poblaciones.

Con respecto a la distribución de los genotipos se puede observar en la figura 6 y en anexo A tabla XVIII que el 4,4 es el más común en ambas poblaciones y no presenta diferencias en sus frecuencias; las diferencias se observan en la distribución del genotipo 3,4 que presenta para el Valle de México una frecuencia de 0.2766 contra 0.125 de la Comunidad judía del D.F., frecuencia que también presenta el alelo 1,1,4 contra 0.075 para el Valle de México.

Para el genotipo 1,2,4 la diferencia en ambas poblaciones es pequeña, no siendo así para los genotipos 1,1,3 y 2,4 que presentan una frecuencia para la Comunidad judía del D.F. de 0.0892 contra 0.055 y 0.0483 para el Valle de México.

También se observan diferencias en la distribución de las frecuencias de los siguientes genotipos:

Población	1.3, 4	1.1, 2	1.2, 1.3	1.2, 2	1.3, 2	1.2, 1.2
Com. Judía del D.F.	0.0535	0.0357	0.0267	0.0178	0.0178	0.0267
Valle de México	0.0266	0.0133	0.0083	0.005	0.005	0.0033

La frecuencia de los anteriores genotipos para el Valle de México se encontraron por debajo de la mitad del valor observado en la Comunidad judía del D.F., con excepción del genotipo 1,2, 1,2 donde su frecuencia en el Valle de México ocho veces menor a la frecuencia encontrada en la Comunidad judía del D.F. (ver anexo A).

Por otro lado, se realizó una comparación alélica de este sistema en diferentes poblaciones mundiales, como se observa en la tabla VII, todas las poblaciones formadas por individuos de raza blanca (*), no presentan diferencias significativas entre sí (18, 52, 58) con la muestra de Caucásico en general y Caucásicos de E.U a excepción de la muestra de los Italianos y los Húngaros ya que presentan una distribución muy baja del alelo 3 a comparación de las demás poblaciones de raza blanca. (60, 61).

Tabla VII.- Distribución de las frecuencias alélicas del sistema HLA-DQA1 en diferentes poblaciones mundiales.

POBLACIÓN	ALELOS						No. de individuos
	1.1	1.2	1.3	2	3	4	
Valle de México	0.0916	0.0841	0.0308	0.0625	0.3016	0.429	600
Com. Judía D.F.	0.1428	0.1116	0.0580	0.0892	0.1696	0.4285	112
Caucásicos	0.144	0.192	0.058	0.142	0.186	0.279	511
Hasidic *	0.14	0.10	0.15	0.13	0.21	0.27	101
No-Hasidic *	0.15	0.12	0.08	0.15	0.21	0.29	107
Caucásicos E.U	0.1378	0.1975	0.0837	0.1095	0.1000	0.2702	413
Alemanes *	0.1541	0.2296	0.0920	0.1085	0.1352	0.3082	159
Daneses *	0.1740	0.2010	0.0670	0.0580	0.1740	0.3260	157
Británicos *	0.1390	0.1890	0.0520	0.1420	0.2090	0.2690	402
Húngaros *	0.2300	0.1440	0.1850	0.0780	0.0440	0.3190	135
Italianos *	0.1750	0.1900	0.0425	0.1300	0.0525	0.4100	200
Barcelona *	0.1432	0.1657	0.0983	0.1235	0.1235	0.3455	356
Valencia Esp. *	0.1822	0.1600	0.1300	0.1230	0.1230	0.3090	107
Austriacos *	0.1706	0.1529	0.0765	0.2059	0.1235	0.2706	170
Finlandeses *	0.2070	0.1980	0.0960	0.1120	0.1210	0.2700	112
Papua N.G.	0.280	0.403	0.056	0.004	0.157	0.101	134
Esquimales-N	0.1470	0.0490	0.0150	0.0150	0.3380	0.4860	92
Esquimales-S	0.0300	0.0090	0.0000	0.0000	0.3830	0.5780	109
Japoneses	0.0869	0.1195	0.2282	0.0054	0.4456	0.1141	92
Afroamericanos	0.125	0.297	0.048	0.101	0.102	0.327	636

Datos tomados de (18, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61 y 62)

La Comunidad judía del D.F. presenta similitud en cuanto a la distribución de las frecuencias de los alelos 1.1 - 1.2 - 1.3 - 2 y 3 con la mayoría de las poblaciones caucásicas o de "raza blanca" a excepción del alelo 4 que presenta una frecuencia muy alta, de la misma manera se observa una diferencia con las poblaciones que tienen diferente origen antropológico como la de Papua Nueva Guinea, las poblaciones de esquimales de Alaska (norte y sur), los Afroamericanos y Japoneses, como se observa en la figura 7 en donde se hace una comparación alélica del sistema HLA-DQA1 en diferentes poblaciones mundiales.

Sin embargo existen poblaciones que para este sistema no son suficientemente informativas como las anteriores, por ejemplo en el estudio realizado en indios americanos identificados como Navajo (n=81) el alelo 4 presenta una frecuencia de

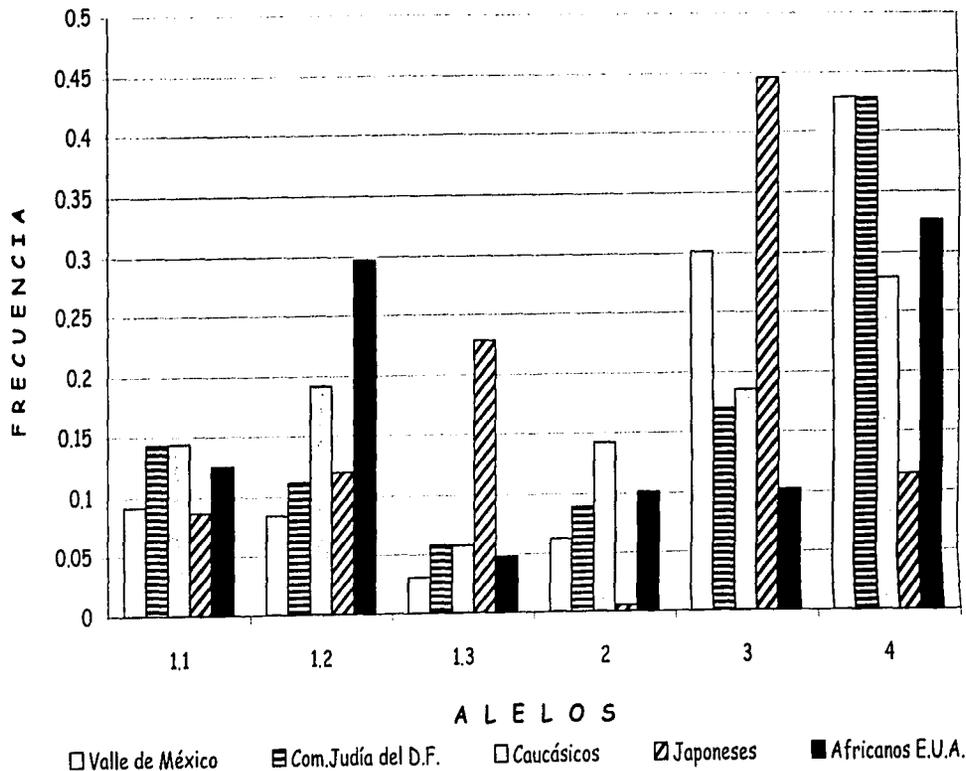


Figura 7.- Comparación alélica del sistema HLA-DQA1 en diferentes poblaciones mundiales.

0.710 y el alelo 3 una frecuencia 0.179 y para Pueblo ($n = 103$) el alelo 4 presenta una frecuencia de 0.762 y el alelo 3 una frecuencia de 0.121. ⁽⁶³⁾

B.4.- Sistema Polymarker.

Para este sistema únicamente se tipificaron 115 individuos. Con los cinco marcadores independientes que integran este sistema (LDLR, *GYP A* HBGG, D7S8 y *GC*) se pueden identificar 12 alelos y 21 genotipos en total, en nuestra muestra se identificaron los 12 alelos posibles y sólo 20 genotipos no identificándose el genotipo *CC* para el locus HBGG, como se puede observar en la tabla VIII.

El genotipo AB es el más frecuente para todos los loci que integran este sistema presentando una frecuencia de 0.4521 hasta 0.5739, a excepción del locus *GC* que presenta una frecuencia de 0.0782. En los tres marcadores genéticos que tienen sólo dos variantes o alelos (A y B) y que su combinación genera 3 genotipos posibles se observa que los homocigotos AA y BB son los menos frecuentes para los loci LDLR, *GYP A* y D7S8.

En los marcadores genéticos que presentan tres variantes posibles (A, B y C) y que su combinación genera 6 genotipos posibles, las frecuencias se distribuyeron de la siguiente manera: para el locus HBGG el genotipo más frecuente como se mencionó anteriormente es el AB con una frecuencia de 0.4521, después de forma decreciente le siguen los genotipos BB, AA, AC, BC y por último el genotipo *CC* que no se observó en nuestra muestra. Para el locus *GC* el genotipo más frecuente es el AC con una frecuencia de 0.4260, después de forma decreciente le siguen el genotipo *CC*, BC, AB, AA y por último el genotipo BB con una frecuencia de 0.0174.

Como se puede observar en la tabla número IX para los loci *GYP A* y D7S8 con dos variantes posibles A y B, el alelo más frecuente es el A, mientras que para el locus LDLR también con dos variantes posibles, el alelo más frecuente es el B.

Para el locus HBGG el alelo más frecuente es el B seguido del A y por último el alelo C que presenta una frecuencia de 0.0173 que es la más pequeña de los cinco loci que integran el sistema genético Polymarker. Para el locus *GC* el alelo más frecuente es el alelo C, seguida del alelo A y después el alelo B.

Tabla VIII.- Distribución de las frecuencias genotípicas en el sistema genético POLYMARKER en 115 individuos de la Comunidad judía del D.F.

LOCUS	GENOTIPO	OBSERVADOS	FRECUENCIA	ESPERADOS	X ²
LDLR	AA	25	0.2173	23.965	0.044
	AB	55	0.4782	57.054	0.0739
	BB	35	0.3043	33.957	0.032
GYPA	AA	35	0.3043	39.033	0.417
	AB	64	0.5565	55.917	1.168
	BB	16	0.1391	20.026	0.809
HBGG	AA	18	0.1565	17.608	0.008
	AB	52	0.4521	53.216	0.027
	AC	2	0.0173	1.556	0.126
	BB	41	0.3365	40.208	0.015
	BC	2	0.0173	2.3527	0.053
	CC	0	0	0.0344	0.034
D7S8	AA	33	0.2869	37.876	0.627
	AB	66	0.5739	56.230	1.697
	BB	16	0.1391	20.869	1.136
GC	AA	6	0.0521	10.648	2.028
	AB	9	0.0782	9.4275	0.019
	AC	49	0.4260	39.249	2.422
	BB	2	0.0174	2.086	0.003
	BC	18	0.1565	17.374	0.022
	CC	31	0.2695	36.167	0.738

En valor de X² obtenido para este sistema fue de 11.505, siendo menor al valor crítico de tablas 26.296, con 16° de libertad y un $\alpha 0.05$, lo que nos indica que los valores observados y esperados no presentan una diferencia significativa.

Tabla IX.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en los 5 loci del sistema genético POLYMARKER en 115 individuos de la Comunidad judía del D.F..

Locus	Alelos observados			Total
	A	B	C	
LDLR	105	125	No tiene	230
Frecuencia	0.457	0.543	---	1.000
GYP A	135	95	No tiene	230
Frecuencia	0.583	0.417	---	1.000
HBGG	90	136	4	230
Frecuencia	0.392	0.591	0.0173	1.000
D7S8	133	97	No tiene	203
Frecuencia	0.579	0.421	---	1.000
GC	69	31	130	230
Frecuencia	0.301	0.134	0.565	1.000

En la comparación alélica que se presenta en la figura 8 y en el anexo A tabla XXI el alelo más frecuente para el locus LDLR para el Valle de México es el A y para la Comunidad judía del D.F. es el B, en el locus GYP A la distribución es similar ya que para ambas poblaciones el alelo A es el más común seguido del B. Sin embargo, el alelo A tiene una frecuencia mayor en el Valle de México y la frecuencia del alelo B es mayor en la Comunidad judía del D.F.

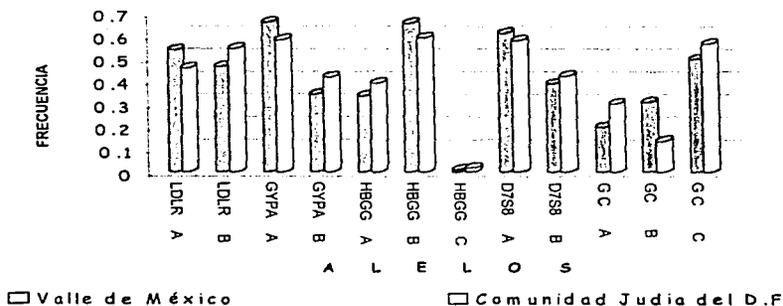
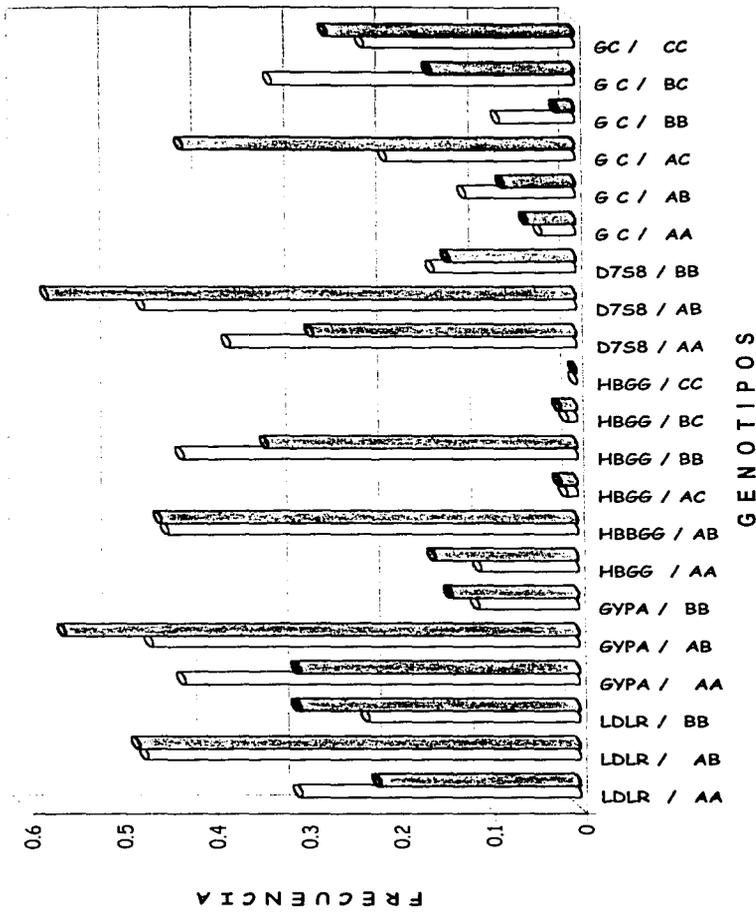


Figura 8.- Comparación alélica del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.



Valle de México Comunidad Judía del D.F.
 Figura 9. - Comparación de los genotipos del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

Para el locus *HBGG* la frecuencia del alelo *A* y *C* en la Comunidad judía del D.F. es ligeramente mayor y el alelo *B* presenta una frecuencia mayor en el Valle de México. En el locus *D7S8* la distribución de ambos alelos en las dos poblaciones es muy similar y por último en el locus *GC* se observan diferencias más notorias en la distribución del alelo *A* que se presenta con una mayor frecuencia en la Comunidad judía del D.F., el alelo *B* se presenta con mayor frecuencia en el Valle de México y el alelo *C* es ligeramente más frecuente en la Comunidad judía del D.F.

Con respecto a la distribución de los genotipos en ambas poblaciones podemos observar en la figura 9 y en el anexo A, tabla XX lo siguiente: Para el locus *LDLR* el genotipo heterocigoto *AB* es muy similar en ambas poblaciones, con relación a los genotipos homocigotos se observa que en el Valle de México es más frecuente el *AA* y para la Comunidad judía del D.F. el genotipo *BB*.

Para el locus *GYP A* el genotipo *AB* es el más común en ambas poblaciones, pero la frecuencia es más alta en la Comunidad judía del D.F., el genotipo *AA* presenta una frecuencia mayor en comparación de la Comunidad judía del D.F. y el genotipo *BB* es ligeramente más frecuente en la Comunidad judía del D.F.

Partiendo de que el alelo *C* del locus *HBGG* presenta una frecuencia muy baja, los genotipos que incluyen este alelo tienen una distribución mínima y similar y no se identificó el genotipo *CC* en ambas poblaciones. Con respecto al genotipo *AB* se observa que es el más común y presenta una distribución similar en ambas poblaciones, pero presenta una frecuencia mayor en la comunidad judía del D. F., seguido del genotipo *BB* que tiene una frecuencia mayor en el Valle de México y el genotipo *AA* que es más frecuente en la comunidad judía del D.F.

Para el locus *D7S8* como en los anteriores loci, el genotipo más común es el *AB* en ambas poblaciones, pero presenta una frecuencia mayor en la Comunidad judía del D.F., seguido del genotipo *AA* con una frecuencia mayor en el Valle de México, para el genotipo *BB* se observa una distribución casi similar en ambas poblaciones.

En el locus *GC* el genotipo más común es el *AC* para la comunidad judía del D.F. y para el Valle de México es menos de la mitad del valor observado en la Comunidad judía del D.F., el segundo genotipo más común es el *BC* que tiene una frecuencia alta para el Valle de México y para la Comunidad judía del D.F. la frecuencia es la mitad del valor observado en el Valle de México. La distribución de los genotipos *AA* y *CC* es ligeramente mayor en la Comunidad judía del D.F., para el genotipo *AB* la frecuencia es mayor en el Valle de México y por último en la distribución del genotipo *BB* se observa

Tabla X. Distribución de las frecuencias alélicas observadas en el sistema genético Polymarker en diferentes poblaciones mundiales.

LOCUS ALELO	Valle de México n=704	Com. Judía Del D.F. n=115	Caucásicos n=511	Hasidic n=111	No Hasidic n=109	Españoles n=132	Japoneses n= 1083	Afroamericanos n=636	Esquimales del Sur n = 101	
LDLR	A	0.5369	0.4565	0.432	0.44	0.39	0.439	0.1714	0.192	0.616
	B	0.4630	0.5434	0.568	0.56	0.61	0.561	0.8286	0.808	0.384
GYP A	A	0.6590	0.5826	0.558	0.57	0.58	0.508	0.5651	0.502	0.629
	B	0.3409	0.4173	0.442	0.43	0.42	0.492	0.4349	0.498	0.371
HBGG	A	0.3345	0.3913	0.465	0.35	0.43	0.477	0.3257	0.439	0.156
	B	0.6548	0.5913	0.532	0.64	0.55	0.519	0.6743	0.236	0.844
	C	0.0106	0.0173	0.003	0.01	0.02	0.004	0.000	0.324	0.000
D7S8	A	0.6108	0.5739	0.602	0.52	0.60	0.576	0.6160	0.645	0.558
	B	0.3892	0.4260	0.398	0.48	0.40	0.424	0.3840	0.355	0.442
6C	A	0.1974	0.3043	0.280	0.28	0.28	0.277	0.2627	0.100	0.299
	B	0.3068	0.1347	0.155	0.14	0.17	0.155	0.5032	0.725	0.326
	C	0.4957	0.5608	0.566	0.58	0.55	0.568	0.2341	0.175	0.375

Datos tomados de (33, 34, 51, 57, 58 y 59)

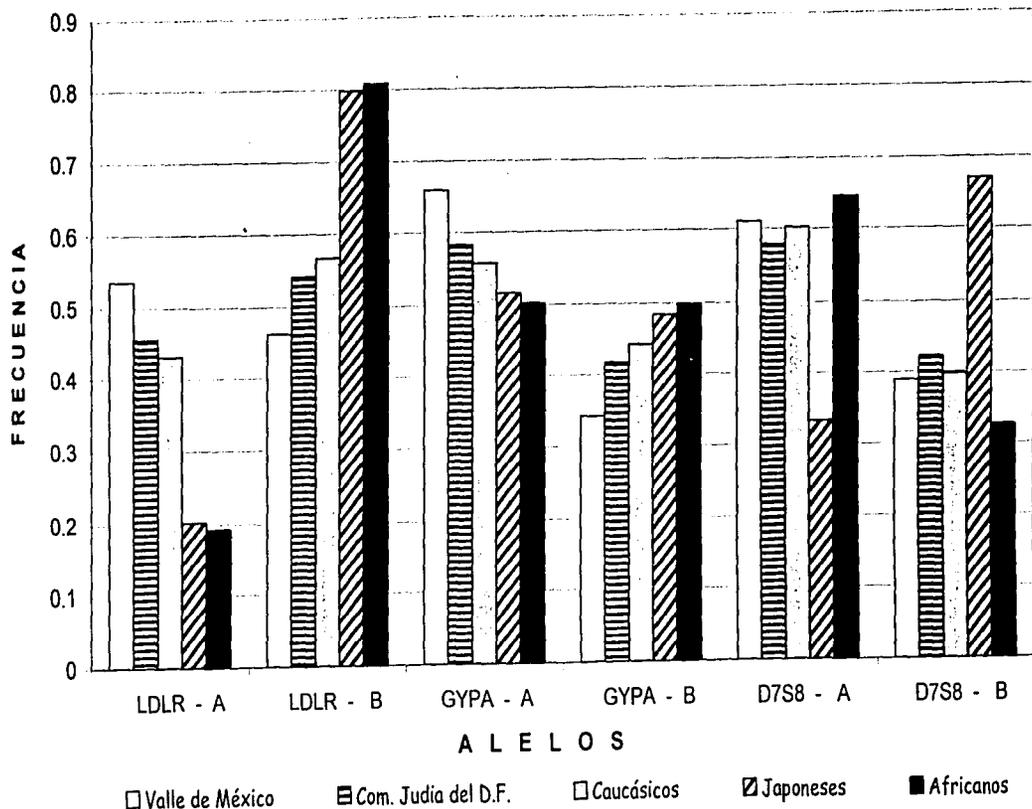


Figura 10.- Comparación alélica del sistema Polymarker en diferentes poblaciones mundiales.

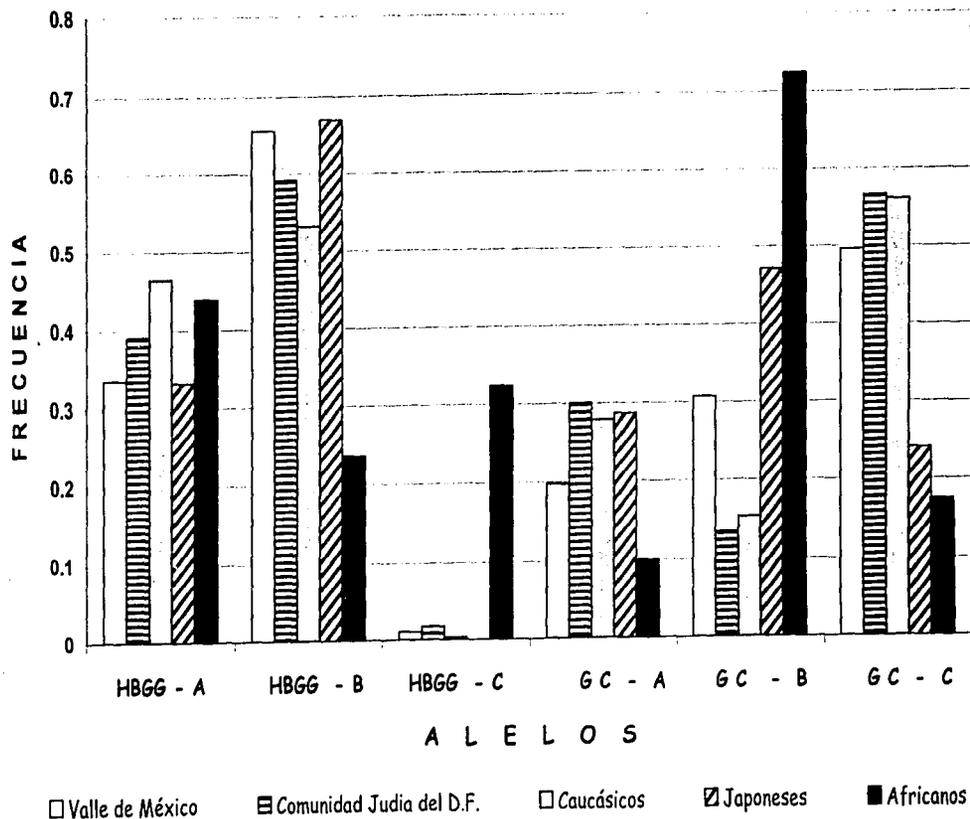


Figura 10B.- Comparación alélica del sistema Polymarker en diferentes poblaciones mundiales.

una gran diferencia entre las dos poblaciones, siendo más frecuente para el Valle de México.

En la tabla X y en las figuras 10 y 10B se realizó una comparación alélica del sistema Polymarker en diferentes poblaciones mundiales observando lo siguiente:

Las diferentes poblaciones de raza blanca presentan una similitud en cuanto a la distribución de las frecuencias alélicas con la muestra de la población caucásica ⁽⁵¹⁾; de la misma manera se observa una diferencia con las poblaciones que tienen diferente origen antropológico como lo son los Afroamericanos, Japoneses y dos poblaciones indias de Estados Unidos.

8.5.- Sistema D1S80.

Para este sistema únicamente se obtuvo el genotipo de 105 individuos, identificándose 12 alelos de los 30 posibles (Ranjan Deka et al., 1994) y 28 genotipos, 5 homocigotos y 23 heterocigotos de las 465 combinaciones posibles como se observa en la siguiente tabla:

Tabla XI.- Distribución de las Frecuencias genotípicas observadas en el locus D1S80 en 105 individuos de la Comunidad judía del D.F..

Genotipo	Observados	frecuencia
18,18	2	0.0190
18,20	1	0.0095
18,24	17	0.1619
18,25	3	0.0285
18,28	2	0.0190
18,29	2	0.0190
18,30	1	0.0095
18,31	1	0.0095
18,34	1	0.0095
20,24	1	0.0095
21,24	7	0.0666
21,28	1	0.0095
21,30	1	0.0095
22,24	4	0.0380

Genotipo	Observados	Frecuencia
24,24	21	0.2000
24,25	4	0.0380
24,26	1	0.0095
24,28	15	0.1428
24,29	2	0.0190
24,30	1	0.0095
24,31	7	0.0666
25,25	1	0.0095
26,29	1	0.0095
28,28	2	0.0190
28,31	2	0.0190
29,30	2	0.0190
29,31	1	0.0095
30,30	1	0.0095

n = 105

Con relación a los genotipos más frecuentes para el sistema D1S80 encontramos en primer lugar el 24, 24 con una frecuencia de 0.2000, seguido del genotipo 18,24 con una frecuencia 0.1619 y el genotipo 24,28 con una frecuencia de 0.1428.

Con los resultados de la tabla XI se calcularon las frecuencias alélicas del sistema D1S80, de donde se desprende que debido a la frecuencia con la que aparece el genotipo 24,24 y sus combinaciones, el alelo más común en la muestra fue el 24 con una frecuencia de 0.4809 que representa casi la mitad de todos los alelos que integran el estudio, seguido del alelo 18 que presentó una frecuencia del 0.1523 y del alelo 28 con una frecuencia del 0.1142.

Con relación a los alelos menos frecuentes encontramos a los alelos 31, 21, 25, 30 y 22 con frecuencias que van de 0.0190 a 0.0523. El resto de los alelos se presentaron con una frecuencia menor a 0.01, como se indica en la siguiente tabla.

Tabla XII.- Distribución de las frecuencias alélicas observadas en el locus D1S80 en 105 individuos de la Comunidad judía del D. F.

ALELO	OBS.	FREC.	X ²
18	32	0.1523	0.1096
20	2	0.0095	0.0097
21	9	0.0428	0.2105
22	4	0.0190	0.0396
24	101	0.4809	1.6523
25	9	0.0428	3.6873

ALELO	OBS.	FREC.	X ²
26	2	0.0095	0.0097
28	24	0.1142	0.3672
29	8	0.0381	0.1647
30	7	0.0333	7.1573
31	11	0.0523	0.3208
34	1	0.0047	0.0024

En valor de X² obtenido para este sistema fue de 13.7311, siendo menor al valor crítico de tablas 19.675, con 11° de libertad y un α 0.05, lo que nos indica que los valores observados y esperados no presentan una diferencia significativa.

Con respecto a la distribución de los alelos en ambas poblaciones podemos observar en la figura 11 y en el anexo A, tabla XXIII que existen varias diferencias empezando

con el alelo 24 que es muy frecuente en la Comunidad judía del D.F. no siendo así para el Valle de México, ocurriendo lo contrario con el alelo 18 que es más frecuente en el Valle de México que para la Comunidad judía del D.F.

El tercer alelo más común en la Comunidad judía es el 28 con una frecuencia de 0.1142 contra 0.0415 para el Valle de México y el alelo 30 es el tercer alelo más común para el Valle de México con una frecuencia de 0.1051 contra 0.0333 de la comunidad judía.

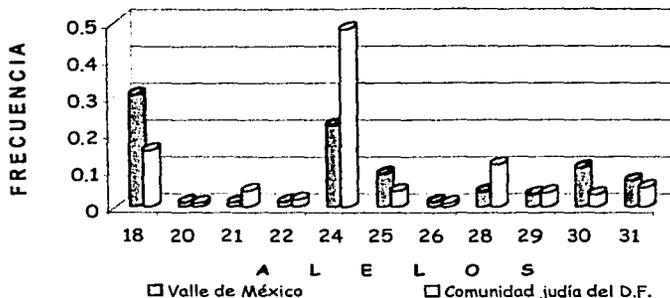
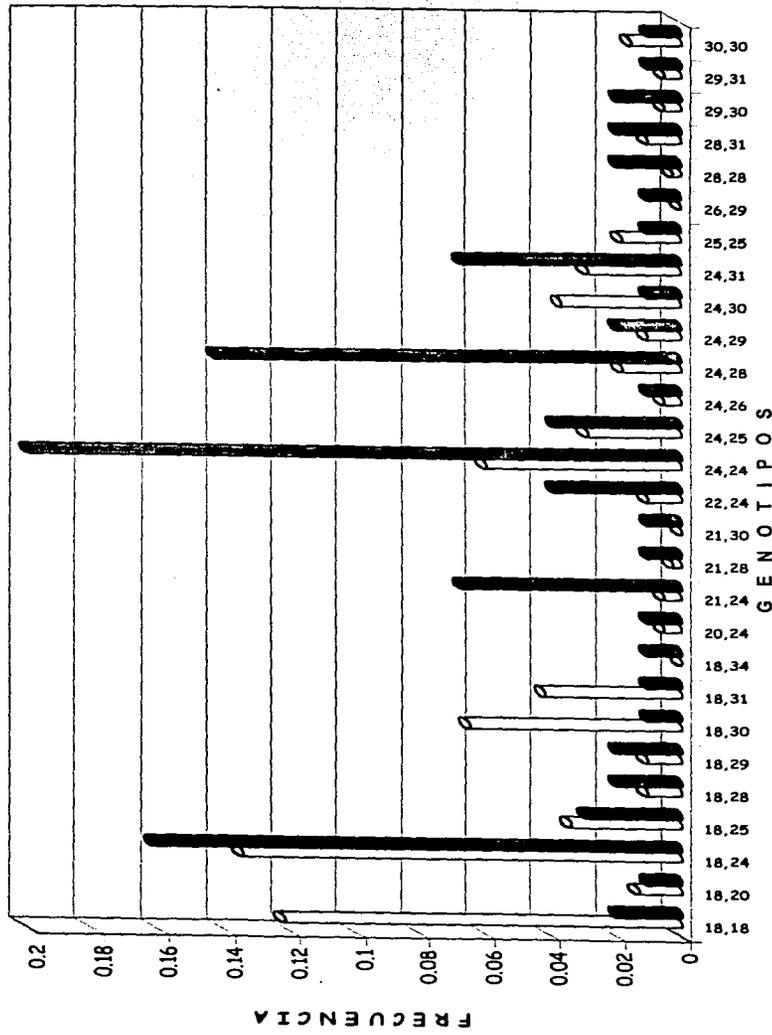


Figura 11.- Comparación alélica del sistema D1S80 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

También se puede observar que la distribución del alelo 21 es mayor en la Comunidad judía, para el resto de los alelos la diferencia entre las dos poblaciones es muy pequeña o son muy similares como en el caso del alelo 20, 26 y 29. Es importante mencionar que para el Valle de México se observaron 24 alelos y para la Comunidad judía del D.F. únicamente 12.

Debido a que los alelos más frecuentes en ambas poblaciones son el 18 y el 24, los cinco genotipos más comunes presentan cualquiera de estos alelos.

Como se puede observar en la figura 12 y en el anexo A Tabla XXII, este sistema es el que presenta más diferencias en cuanto a la distribución de los genotipos en ambas poblaciones por ejemplo: para la Comunidad judía del D.F. encontramos que el genotipo más común es el 24, 24 seguido en forma decreciente por los genotipos 18,24 - 24,28 - 21,24 - 24, 31 - 22,24 y 24,25, en contraste con el Valle de México que presenta



□ Valle de México
 ■ Comunidad Judía del D.F.

Figura 12.- Comparación de los genotipos del sistema D1580 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

con mayor frecuencia el genotipo 18,24 seguido en forma decreciente por los genotipos 18, 18 - 18,30. - 24,24 - 18, 31 y 24, 30.

Los genotipos observados en el Valle de México fueron 78 y para la Comunidad judía del D.F. 28, sin embargo se encontraron tres genotipos que no se presentan en el Valle de México que son: 18,34 - 21,30 y 26,29.

En un estudio realizado en 2 subpoblaciones de Nueva York, los Hasidic y no Hasidic que son judíos conocidos como Ahzkenazis que migraron a E.U.A. del este y centro de Europa, se presenta una distribución de alelos similar a la Comunidad judía del D.F., encontrando para ambas el alelo 24 con el 50% del total de los alelos ⁽⁶³⁾.

Al comparar la distribución de las frecuencias alélicas de la Comunidad judía del D.F. con diversas poblaciones mundiales se encontró que son similares con varias poblaciones Caucásicas, en donde predomina principalmente el alelo 24 con una frecuencia de 0.371 a 0.500, el alelo 18 con un rango de frecuencias de 0.1523 a 0.301 y el alelo 28 con frecuencias de 0.050 a 0.1142.

Se pueden observar diferencias entre la Comunidad judía del D.F. y las poblaciones mundiales con diferente origen antropológico, como lo son Valle de México, Orientales, Afroamericanos y una población cerrada Kachari (KA) del noroeste de la India ^(39, 64). Lo anteriormente expuesto se refleja en la figura 13 y en la tabla XIII.

Como se puede observar en la tabla XIII, las poblaciones europeas y poblaciones formadas por individuos de "raza blanca", presentan los alelos 18 y 24 con más del 50% del total de los alelos hasta un 80%, no siendo así para poblaciones como el Valle de México, Afroamericanos, Orientales y poblaciones cerradas o no estratificadas como la KA, poblaciones étnicas de Brasil y Australia, sin embargo existen excepciones como por ejemplo en los estudios de la población de Qatar la suma de las frecuencias de los alelos 18 y 24 alcanzan (0.2117 y 0.4233 respectivamente) el 63% del total y en la población de Kuwait el alelo 24 alcanza una frecuencia de 0.408 ^(39, 54, 69, 70).

Tabla XIII.- Distribución de las frecuencias alélicas del sistema genético DIS80 en diferentes poblaciones mundiales.

Alelo	Valle de México n=385	Com.jud. del D.F. n=105	Caucási- cos *n=718	Hasidic n=98	no Hasidic n=256	Italianos n=103	Españoles n=120	Alema- nes n=87	Daneses n=210	Afroame- ricanos n=606	Orientales n=204	ka n=53	Alelo
14	0.0013	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	14
16	0.0233	---	0.001	---	0.002	---	---	0.011	---	0.002	0.034	0.019	16
17	0.0129	---	0.002	---	---	0.005	---	---	0.005	0.028	0.025	---	17
18	0.3039	0.1523	0.237	0.301	0.205	0.155	0.2292	0.172	0.224	0.073	0.152	0.396	18
19	0.0039	---	0.003	0.005	0.002	---	---	---	0.002	0.003	0.022	0.028	19
20	0.0116	0.0095	0.018	0.005	0.014	0.015	0.0083	0.034	0.028	0.032	0.007	---	20
21	0.0116	0.0428	0.021	0.015	0.037	0.029	0.0042	0.034	0.014	0.115	0.034	0.019	21
22	0.0129	0.0190	0.038	0.020	0.035	0.053	0.0542	0.063	0.041	0.081	0.017	0.009	22
23	0.0090	---	0.012	0.005	0.008	0.019	0.0125	0.017	0.019	0.014	0.017	0.009	23
24	0.2207	0.4809	0.378	0.500	0.473	0.437	0.4083	0.379	0.371	0.234	0.230	0.151	24
25	0.0896	0.0428	0.046	0.071	0.070	0.029	0.0375	0.034	0.036	0.045	0.027	0.034	25
26	0.0129	0.0095	0.020	0.005	0.014	0.029	0.0167	0.040	0.017	0.006	---	0.040	26
27	0.0155	---	0.007	0.010	0.010	0.005	0.0125	0.006	0.012	0.008	0.047	0.006	27
28	0.0415	0.1142	0.063	0.026	0.055	0.107	0.0708	0.069	0.050	0.130	0.076	0.047	28
29	0.0337	0.0380	0.052	0.015	0.014	0.049	0.0500	0.034	0.057	0.053	0.042	0.075	29
30	0.1051	0.0333	0.008	---	0.002	0.010	0.0208	0.017	0.010	0.009	0.123	0.066	30
31	0.0714	0.0523	0.072	0.015	0.039	0.044	0.0417	0.052	0.088	0.054	0.093	0.085	31
32	0.0052	---	0.006	---	0.014	---	---	0.017	0.005	0.007	0.012	0.009	32
33	0.0013	---	0.003	---	---	0.005	---	0.0060	---	0.004	0.005	0.019	33
34	0.0052	0.0047	0.001	0.005	0.004	0.010	0.0083	---	0.005	0.086	0.005	---	34
35	0.0013	---	0.003	---	0.002	---	---	0.006	0.005	0.002	0.005	0.019	35
36	0.0026	---	0.004	---	---	---	0.0042	0.006	0.007	0.001	0.005	0.009	36
37	---	---	0.001	---	0.002	---	0.0083	---	0.002	---	0.007	---	37
38	---	---	---	---	---	---	0.0125	---	---	---	---	---	38
39	---	---	0.003	---	---	---	---	---	---	0.003	0.005	---	39
40	0.0013	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	40
41	---	---	---	---	---	---	---	---	0.002	0.002	0.007	---	41
>41	0.0013	---	0.001	---	---	---	---	---	---	0.007	---	---	>41

(38,44, 64, 65, 66, 67,68)

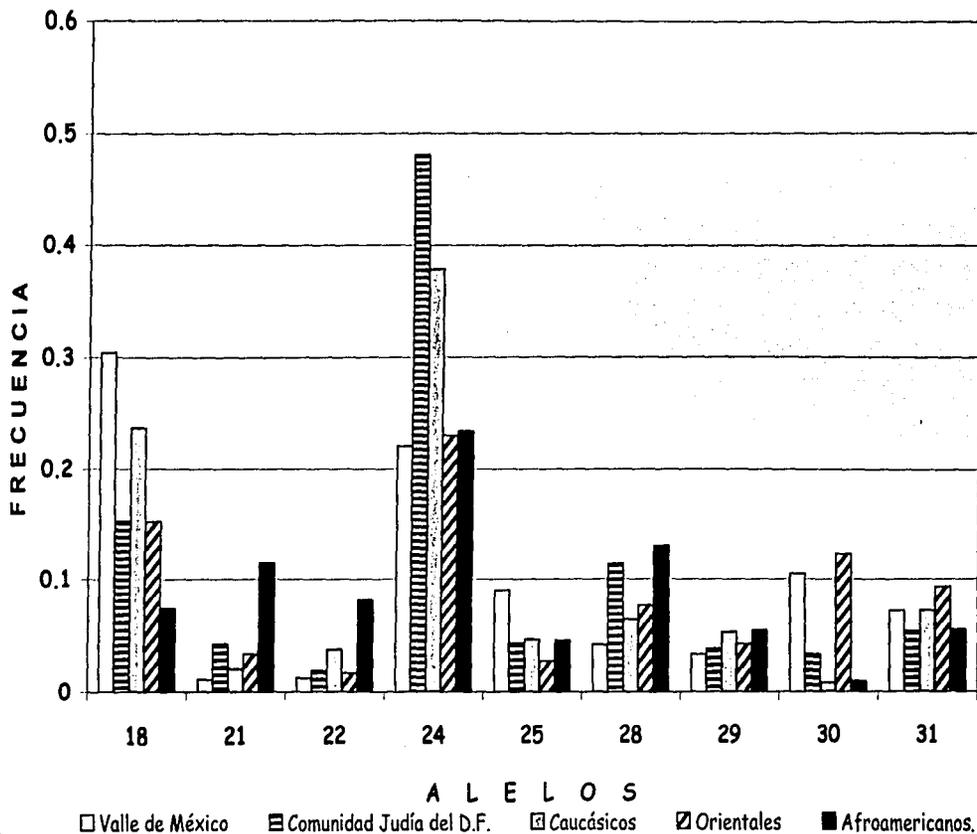


Figura 13.- Comparación alélica del sistema D1580 en diferentes poblaciones mundiales.

8.6.- Equilibrio de Hardy-Weinberg

Para probar la hipótesis de que $FIS = 0$, lo que implica que el loci está en equilibrio de Hardy-Weinberg, se utilizó una prueba de Ji-cuadrada donde $\chi^2 = n(FIS)^2$ (Nei, 1987), con un grado de libertad y un α de 0.05, observando los resultados en la siguiente tabla:

Tabla XIV.- Resultados de la Ji- cuadrada utilizando el índice de fijación Fis

Locus	Tamaño de muestra Com. Jud. del D.F.	Heterocigocidad observada	Heterocigocidad esperada	F	Ji-cuadrada
LDLR	115	0.4782	0.496324	0.036517	0.15335
GYP A	115	0.5565	0.486438	-0.14403	2.38566
HBGG	115	0.507	0.496949	-0.02022	0.04704
D7S8	115	0.5739	0.487854	-0.17638	3.577511
GC	115	0.661	0.572405	-0.15478	2.754932
D1S80	112	0.7715	0.722983	-0.06711	0.504375
HLADQA1	105	0.7413	0.743457	0.002901	0.000883

Valor de tablas con un grado de libertad y un α de 0.5 = 3.841

El valor obtenido de la Ji cuadrada para los 7 loci es menor al valor crítico de tablas, por lo que se acepta la hipótesis de que los 7 loci (los tres sistemas de identificación forense) se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

8.7.- Diferencias significativas entre la Comunidad judía del D.F. y el Valle de México.

Tabla XV.- Resultados de la Ji- cuadrada para establecer diferencias significativas.

Locus	Alelos	Ji-cuadrada Calculada	Grados de libertad	Ji-cuadrada tablas α 0.5
LDLR	2	5.12599	1	3.84
GYP A	2	5.061967	1	3.84
HBGG	3	3.865723	2	5.99
D7S8	2	0.876925	1	3.84
GC	3	32.43344	2	5.99
HLADQA1	6	24.29027	5	11.1
D1S80	12	94.10999	11	19.1

Con los resultados observados en la tabla XV se establece que existen diferencias significativas en cuanto a la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas de los loci LDLR, GYPA, GC, HLADQA1 y D1S80 entre ambas poblaciones debido a que la Ji cuadrada calculada fue mayor que el valor crítico de tablas por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Para los loci HBGG y D7S8 la Ji cuadrada calculada fue menor al valor crítico de tablas por lo que se acepta la hipótesis nula, determinando que las distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas no presentan diferencias significativas entre ambas poblaciones.

8.8.- Parámetros estadísticos útiles en el área forense

Tabla XVI.- Valores de heterocigocidad y Homocigocidad, de los sistemas HLADQA1, Polymarker y D1S80.

LOCUS	HETEROCIGOCIDAD	HOMOCIGOCIDAD
LDLR	0.4782	0.5218
GYPA	0.5565	0.4435
HBGG	0.507	0.493
D7S8	0.5739	0.4261
GC	0.661	0.339
HLA	0.7413	0.2587
D1S80	0.7715	0.2785

Como se indica en la tabla de arriba, la heterocigocidad para el sistema Polymarker es baja, no siendo así para los sistemas HLADQA1 y D1S80, que presentan una cifra mayor al 0.70.

Tabla XVII.- Valores de Poder de discriminación y Poder de exclusión de los sistemas HLADQA1, Polymarker y D1S80.

LOCUS	PD OBS.	PD ESP.	PE
LDLR	0.63137996	0.62308820	0.18655125
GYPA	0.58253308	0.61709551	0.18366211
HBGG	0.64332703	0.63955074	0.20385254
D7S8	0.57376181	0.61865016	0.18440011
GC	0.71470699	0.74474465	0.29893230
HLA	0.90051020	0.90346551	0.53851226
D1S80	0.89705215	0.90061792	0.53675640
TOTAL	0.99993164	0.99995142	0.93537502

En la tabla XVII podemos observar que el poder de discriminación de manera individual es bajo para los loci LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 Y GC, no obstante para los tres sistemas de identificación forense es de 0.9999316 y presentan un poder de exclusión del 0.93537.

CAPÍTULO IX.- DISCUSIÓN

Como se puede observar en la tabla III, sobre el origen de los abuelos de las personas que integran el estudio, se advierte claramente que, un número reducido de personas de la comunidad judía nacieron en nuestro país; por ejemplo para los abuelos maternos se encontraron 6 individuos con ambos abuelos maternos nacidos en México y 5 individuos con uno de los dos abuelos nacidos en México y para el origen de los abuelos paternos, únicamente 3 individuos tuvieron ambos abuelos nacidos en México y 2 individuos con uno de los dos abuelos nacidos en nuestro país. El resto de los abuelos nacieron y migraron de diferentes partes de Europa como Polonia, Rusia, Siria y solo una pareja de abuelos paternos nació en Cuba.

Muchos de los descendientes de la comunidad judía moderna (representados en este estudio por los abuelos paternos y maternos), se establecieron en varios estados incluyendo el Distrito Federal, desarrollándose en diversas áreas como: la económica, cultural, social y religiosa, motivo por el cual, más del 50% de los padres de los encuestados nacieron en nuestro país, pasando a ser parte de la población mexicana. El resto de los padres migraron de países como Polonia, Rusia, Siria y Alemania entre otros, integrándose a la comunidad Judía establecida en el Distrito Federal.

Sistema HLA DQA1

En el sistema HLA DQA1 la distribución de los alelos 1.1, 1.2, 1.3 y 2 es más frecuente en la comunidad Judía del D.F. que para la población del Valle de México, observándose el mismo patrón de distribución para la mayoría de las poblaciones caucásicas.

Lo anterior no quiere decir que estos alelos son característicos o sólo se presenten en la raza caucásica, ya que pueden existir algunas variaciones como se pudo observar en la tabla VII en donde la población Austriaca y Británica presentan una distribución bastante homogénea para todos alelos del sistema, a excepción del alelo 1.3 e incluso se encuentra lo mismo para la muestra de caucásicos la cual incluye a personas de raza blanca sin importar la nacionalidad. También hay que hacer notar que las poblaciones que presentan la frecuencia más baja para el alelo 3 son la húngara e italiana, contrastando con las demás poblaciones caucásicas que presentan frecuencias superiores a 0.1.

En poblaciones bien identificadas como los esquimales del sur y del norte de Alaska, los japoneses y los afroamericanos, el sistema HLA DQA1 puede distinguir a estos individuos debido a las diferencias en la distribución de los alelos por ejemplo, los

japoneses presentan la frecuencia más alta para los alelos 3 y 1.3 y los africanos el alelo 1.2 y también puede diferenciar a la población del Valle de México ya que los alelos más comunes son el 3 y 4 y posee frecuencias bajas para el alelo 2 y para los subtipos del alelo 1.

Cuando se realiza un estudio en alguna población aislada o endogámica, los resultados no son muy útiles para la identificación de individuos, debido a que, estas poblaciones tienden a la fijación de un alelo, característica que resulta de la consanguinidad. Por ejemplo, en un estudio realizado en 2 poblaciones indias norteamericanas, el alelo 4 representa más del 70 % del total de los alelos y por consecuencia el genotipo más común es el 4,4, con una frecuencia para Navajo de 0.504 y para Pueblo 0.573, aumentando de esta manera la homocigidad.

Sistema Polymarker

La distribución de las frecuencias observadas en la comunidad judía del D. F. son similares a las encontradas en caucásicos, judíos ortodoxos (Hasidic), judíos no Hasidic y a la población española, lo que sugiere que, los integrantes de la muestra analizada se incluyen dentro de la población caucásica.

Por otro lado, en la comparación realizada con diferentes poblaciones mundiales se observó que, los loci LDLR, HBGG Y GC pueden dividir a los individuos en 3 grandes grupos que son: los caucásicos, japoneses y afroamericanos, así como lo hace con la población del Valle de México, debido a que la distribución de ciertos alelos es más frecuente en una población y muy baja en otras.

Con respecto al locus LDLR, dos poblaciones antropológicamente distintas como lo son la japonesa y la afroamericana presentan la misma distribución en ambos alelos, por lo tanto, este locus únicamente podría diferenciar a las poblaciones caucásicas y a la del Valle de México.

Para la población de esquimales del sur de Alaska, el alelo A del locus LDLR (0.616) y el alelo B del locus HBGG (0.844) presentan la frecuencia mas alta observada en la comparación alélica mundial. Estas frecuencias nos indican que existe una fijación de alelos, probablemente resultado de una deriva génica, fenómeno que se presenta en poblaciones pequeñas y en ausencia de mutación, un alelo eventualmente se fija originando una población homocigota, reduciendo su variabilidad.

Como se mencionó en el apartado de resultados, el alelo menos frecuente en todas las poblaciones para el locus HBGG es el C, a diferencia de la población afroamericana que presenta una frecuencia elevada, siendo el único alelo que se podría considerar como característico para esta población.

Sistema D1580.

En el sistema D1580 la distribución del alelo 24 es más frecuente en la comunidad judía del D.F. que para el Valle de México, observando lo mismo para todas las poblaciones caucásicas que se describen en la tabla XIII, siendo un alelo muy común en estas poblaciones, lo que sugiere que los integrantes de la muestra analizada son de raza caucásica.

El sistema D1580 tiene la capacidad de distribuir a la población humana en grupos muy generales como: los caucásicos, orientales y africanos, debido a la diferencia en cuanto a la distribución de los alelos, por ejemplo: los alelos más comunes en la población oriental son el 24, 18 y 30, para los afroamericanos el 24, 28 y 21 y por último para la población caucásica el alelo 24.

Con respecto a las poblaciones aisladas o endogámicas como, los judíos ortodoxos (Hasidic) se puede observar que el 50 % del total de los alelos corresponde al 24, el aumento de la frecuencia de un alelo dá como resultado que la homocigocidad aumente obteniendo para esta población un valor de 39.8 %, pudiendo ser reflejo de una deriva génica.

Dos de las características que debe poseer un marcador genético para ser utilizado en el área forense son su gran polimorfismo y que la distribución de sus alelos sea homogénea en la población. El sistema D1580 presenta 30 alelos, sin embargo; como se observa en la figura 11 y en la tabla XXIII, hay dos alelos que acaparan más del 50 % de la frecuencia total del marcador D1580. Para el Valle de México encontramos para el alelo 18 una frecuencia de 0.3039 y el 24 con una frecuencia de 0.2207; para la comunidad Judía del D.F., se observó lo siguiente: para el alelo 18 una frecuencia de 0.1523 y alelo 24 una frecuencia de 0.4809.

Como resultado de lo anterior las combinaciones más frecuentes son: para el valle de México 18,24 y para la comunidad Judía del D.F. el genotipo 24,24. Sin embargo esto no quiere decir que el sistema no es útil, ya que parámetros como el de heterocigocidad (0.7715) y poder de discriminación (0.897) nos indica que el sistema presenta una homocigocidad baja por lo que el alelo 24 se encuentra más en sus

genotipos heterocigotos y que se puede diferenciar a dos individuos tomados al azar de la misma población con una probabilidad del 89%.

Lo mismo ocurre con el sistema HLADQA1 en donde los genotipos más frecuentes son 3,4 y 4,4 para el Valle de México y para la comunidad Judía del D. F. son el 4,4, 3,4 y 1,1,4, no obstante presentan un poder de discriminación del 86 % y 90% respectivamente.

Con el objetivo de aumentar parámetros como el poder de discriminación y el poder de exclusión, es necesario utilizar siempre la mayor cantidad de marcadores genéticos para acercarnos cada vez más a una identificación casi del 100%.

Los resultados obtenidos del análisis estadístico para ver si existen diferencias significativas entre la comunidad judía del D. F. y el Valle de México, indicaron que los sistemas HLADQA1, D1S80 y los loci LDLR, GYPA y GC del sistema Polymarker, presentan diferencias significativas, motivo por el cual las frecuencias generadas en este estudio se manejarán por separado y se generará un banco de datos de la mayoría de los integrantes del Valle de México, tomando en cuenta que existen grupos o comunidades con diversos orígenes en la misma población.

Como se ha mencionado, existen diferencias entre las poblaciones en cuanto a la distribución de los genotipos y alelos de algunos marcadores, así como a nivel de fenotipo, como se pudo observar entre la comunidad Judía del D.F. y la población del Valle de México para el sistema sanguíneo ABO, en donde se encontró que la distribución de los grupos es muy diferente, aun tratándose de individuos de la misma población.

Por todo lo anterior, es importante tomar en cuenta los antecedentes históricos de la población a estudiar, principalmente si ha existido migración o si ha estado actuando la deriva génica o uniones preferenciales que puedan explicar las diferencias y posteriormente analizar por separado las frecuencias alélicas y genotípicas de las distintas subpoblaciones.

Como se precisa en tabla XVII el poder de discriminación para los tres sistemas de identificación forense HLADQA1, Polymarker y D1S80 es de 0.99993164 lo que indica que, pueden diferenciar a dos individuos tomados al azar de una misma población y un poder de exclusión de 0.93537, siendo lo ideal para una prueba de identificación: 0.99999, por lo que se deben tipificar la mayor cantidad de marcadores genéticos como los STR's, que actualmente se manejan en Laboratorio de Genética Forense de la P. G. J. D. F.

CAPITULO X.- CONCLUSIONES

- La Comunidad Judía del D.F. y la población del Valle de México presentan diferencias en cuanto a la distribución de la mayoría de sus alelos y genotipos en los sistemas de identificación forense HLA-DQA1, en los loci LDLR, GYPA, Y GC, así como el D1S80; aun tratándose de habitantes de la misma población en este caso Distrito Federal, debido a que tienen diferentes orígenes antropológicos, pero principalmente por su cultura y religión no han permitido que exista una integración total de su comunidad con el resto de la población del Valle de México.
- Debido a las diferencias en ambas poblaciones se establece que la migración de la Comunidad Judía del D.F. modifica las frecuencias alélicas y genotípicas del Valle de México, por lo que el manejo de los resultados se hará por separado y formaran parte de la base de datos que actualmente se utiliza en el Laboratorio de Genética Forense de la P.G.J.D.F.
- La muestra estudiada de la Comunidad Judía del D.F., se encuentra en equilibrio de Hardy - Weinberg, lo que nos indica que no ha actuado ninguna fuerza de evolutiva de manera importante, como selección natural, migración e inmigración, manteniéndose de esta forma las frecuencias alélicas y genotípicas de generación en generación, debido a que la Comunidad Judía presenta un intercambio genético reducido.
- El resultado obtenido en los parámetros forenses poder de discriminación y poder de exclusión indica que los sistemas genéticos HLA-DQA1, Polymarker y D1S80, son capaces de diferenciar a 2 individuos tomados al azar de una misma población, siendo de gran utilidad en la resolución de problemas de identificación de individuos en casos como violación, homicidio y paternidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lisker Y.R., y Armendaros S.S. (1994). Introducción a la Genética Humana. El Manual Moderno. pp. 318.
2. Dobzhansky T., Ayala F.J., Stebbins G.L. y Valentine J.W. (1981). Evolución. Omega, España. pp. 558.
3. Huguet R.E., Carracedo A.A., Gene B.M. (1988). Introducción a la Investigación Biológica de la Paternidad. PPU. pp. 260.
4. Martínez D.P.M. (1997). Genotipado y Medicina Forense. Memorias Curso Estrategias en el Diagnóstico Molecular de las Enfermedades con una Base Genética. España.
5. John P. (1991). La Historia de los Judíos. Javier Vergara Editor. México. pp. 656.
6. Greenleaf R.E. (1992). Zummárraga y la Inquisición mexicana 1536-1543. Fondo de Cultura Económica. México. pag 108-115.
7. Toro A. (1944). La familia Carvajal. Patria. México. Tomo I. pp 243.
8. Krause C.A. 1987. Los Judíos en México. Univ. Iberoamericana. México. pp. 290.
9. Braudel F. (1995). El mediterráneo y el mundo mediterráneo en la época de Felipe II. Tomo II. Fondo de Cultura Económica. México. pag 205,207,212.
10. Eguarte, L. E. "Una guía para principiantes a la Genética de Poblaciones" Ciencias, México. pag: 30-38.
11. Cook L.M. (1984). Genetica de Poblaciones. Omega, Barcelona. pp. 292.
12. L. de Garay A. (1988). Genética de Poblaciones y Evolución. Textos UAP, México. pp. 277.
13. Hastings A. (1997). Population Biology. Springer Verlag. New York. pp .220.
14. Lisker R. (1981). Estructura Genética de la Población Mexicana. Aspectos médicos y antropológicos. Salvat Biblioteca Médica Mexicana. México. pp. 158.

15. Ridley M. (1996). Evolution. Blackwell Science. USA. pp 719.
16. Lisker R., Ramirez E. y Babinsky V. (1996). Genetic Structure of autochthonous population of mesoamerica: México. Human Biology 68:395-404.
17. Lorente J.A. y Lorente M.A. (1995). El ADN y la identificación en la investigación Criminal y en la Paternidad biológica. Comares. España. 307pp.
18. Helmuth R., Fildes N., Luce M., Chimera J., Madej R., Gorodezky C., Stoneking M., Schmill N., Klitz W., Higuchi R. y Erlich R. (1990). HLA-DQ α alleles and genotype frequencies in various human population determined by using amplification and oligonucleotide probes. American Journal of human genetics. 47:515-523.
19. Tamarin R.H. (1996). Principios de Genética. Reverté. Barcelona. pp. 607.
20. Lehninger A.L. (1994). Bioquímica. Omega. España pp. 1362.
21. Graham R.T. (1997). Forensic DNA Technology. Second Edition, CRC Press, New York. pp 224.
22. International Human Genome Sequencing Consortium, (2001) " Initial sequencing and analysis of the human genome" Nature 409:860-921.
23. Butler J.M. 2001. Forensic DNA Typing. "Biology and Technology behind STR markers". Academic Press. E.U. pp 322.
24. Reynolds R. y Sensabaugh G. (1991). Analysis of genetic markers in forensic ADN sample using the Polymerase Chain Reaction. Analytical Chemistry. 63(1):1-15.
25. Eckert, W.G. (1996) Introduction to forensic Science. Second Edition, CRC Press, New York. pp 242.
26. Erlich H.A. (1989). PCR Technology. Principles and applications for ADN amplification. Stockton press. USA. pp 246.
27. García, T. F. (1997). Fundamentos de Inmunología. UNAM. México. pp.529.
28. Inman K. y Rudin N. (1995). An Introduction to Forensic ADN Analysis. CRC. Press. N.Y. USA. pp 256.

29. Comey C.T., Budowle B., Adams D.E., Baumstark A.L., Lindsey J.A. y Presley L.A. (1993). PCR amplification and typing of the HLA-DQ genes in forensic samples. *J Forensic Sci.* **38**(2):239-249.
30. Applied Biosystems. *Guide: Amplytype PM+DQA1*. 2000. USA. pp 44
31. Gyllensten V. y Erlich H.A. (1989). Generation of single stranded ADN by Polymerase Chain Reaction and its application to direct sequencing of the HLADQ α locus. *Proceedings of the National Academic Science of the USA*. **86**:6230-6234.
32. Budowle B. Lindsey J.A., Koons B.W., Giusti A.M. y Corney C.T. (1995). Validation and population studies of the loci LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and Gc (PM loci) and HLA-DQ using a multiplex amplification and typing procedures. *J Forensic Sci.* **40**(1):45-54 .
33. Nava H.L.M. (1998). Distribución de los marcadores genéticos HLADQ α , LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, Gc y secretores del sistema ABO en la población del Valle de México. Tesis UNAM- FES Iztacala. México. pp 90.
34. Luja C.S. (1998). Distribución de Frecuencias Genéticas de los Loci de Polymarker α en una muestra aleatoria del Valle de México y su aplicación en el campo forense. Tesis. UNAM. FES Zaragoza. México. pp 98.
35. Saiki R.K., Walsh P.S. y Levenson C II. (1989). Genetic Analysis of amplified ADN with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes. . *Proceedings of the National Academic Science of the USA*. **86**:6230-6234.
36. Lincoln P.J. y Thomson J. (1998). Forensic ADN Profiling Protocols. Human Press Inc. Volumen 98. E.U.A. pp. 307.
37. Applied Biosystems. *Guide: AmpliFLP™ D1S80*. 2000 USA. pp 44.
38. Budowle B. Chakraborty R, Giusti A.M., Eisenberg A.J. y Allen R.C. (1991). Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *American Journal Human Genetic*. **48**:137-144.
39. Deka R., DeCroo S., Jin L., McGarvey S T., Rothhammer F., Ferrell R E. y Chakraborty R. (1994). Population Genetic Characteristics of D1S80 locus in seven human population. *Human Genetics* **94**:252-258.

40. Sajantila A., Budowie B., Ström M., Johnsson V., Lukka M., Peltonen L. y Ehnhoim C. (1992). Amplifications of alleles at the DIS80 locus by the polymerase chain reaction: comparison of a Finnish and a North American population sample, and forensic case-work evaluation. *Am. J. Hum. Genet.* 50:816-825.
41. Saavedra C.G. (1996). Análisis de la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en el locus DIS80 en una muestra de la zona metropolitana de la ciudad de México. Tesis. UNAM FES Zaragoza. México. pp 150.
42. Franco de A.M. (1999). Apuntes de Historia de La Criminalística en México. Porrúa, México. pp. 97.
43. Moreno G.R.L. (1981). Manual de Introducción a la Criminalística. Porrúa, México. pp. 219.
44. Quiroz C.A. (1984). Medicina Forense. Porrúa, México.
45. Reyes M.A. (1977). Dactiloscopia. Porrúa. México. pp. 133.
46. Lorente A.M. y Lorente A.J.A. (1996). La tecnología del ADN en Medicina Forense: Importancia del indicio y del lugar de los hechos. Cuadernos de Medicina Forense, No. 3. España.
47. Sinnott E.W., Donn L.C. y Dobzhansky, T. (1972). Principios de Genética. Omega. España. pp. 581.
48. AmplyType™ User Guide Version 2. Perkin Elmer, Norwalk, CN. pp 118.
49. Walsh P.S., Metzger D. y Higuchi R. (1991). Chelex® 100 as a medium for simple extraction of ADN for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* 10:506-513.
50. Martínez, J.M.A. (1999). La prueba del ADN en Medicina Forense. Masson,S.A. España. pp. 342
51. Rodríguez C.M.S., Bellas S., Souto L., Vide C., Valverde E. y Carracedo A. (1996). Population data on the loci LDLR, GYPA, HBG6, D7S8 and GC in three Southwest European populations. *J Forensic Sci.* 41(2):291-296.

52. Novelli G., Spinella A., Gennarelli M., Mingarelli R. y Dallapiccola B. (1992). Analysis of apoB, HLA-DQ alpha, and D1S80 Polymorphisms in the Italian Population Using the Polymerase Chain Reaction. *American Journal of Human Biology* 4:381-386.
53. Huston K.A. (1998). Statistical Analysis of STR Data. Profiles in ADN. 103: vol. 1, No. 3. pp 14-15.
54. Heidrich E.M., Hutz M.H., Coimbra C.E.A. y Santos R.B. (1995). D1S80 locus variability in three Brazilian ethnic groups. *Human Biology*. 67(2):311-319.
55. Huguet G.M., Corbella J. y Moreno P. (1993). Distribution of the HLA-DQ α alleles and genotypes in a sample of population from Barcelona (Spain). *Human Genetics* 43:326-328.
56. Ambach E., Zehethofer K. y Scheithauer R. (1996). HLA-DQ α genotype and allele frequencies in an Austrian population. *Human Heredity* 48:71-75.
57. Monson K. (1997). Database size for frequency estimation of PCR profiles. Proceedings from the eighth International Symposium on Human Identification, Promega. pp 1-12.
58. Medintz I., Levine L., McCurdy L., Chiriboga L., Kingston C., Crim D., Desnick R.J., Eng C.M. y Kobilinsky L. (1997). HLA-DQA1 and *Polymarker* allele frequencies in two New York City Jewish populations. *Journal of Forensic Science*. 42(5):919-22.
59. Walkinshaw M., Strickland L., Hamilton H., Denning K. y Gayley T. (1996). ADN profiling in two Alaskan Native populations using HLA-DQA1, PM, and D1S80 loci. *Journal of Forensic Science*. 41(3):478-84.
60. Woller J., Budowle B., Angyal M., Füredi S. y Pádár Z. (1998) Population data on the loci HLA-DQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, GC and D1S80 in a Hungarian Romany population. *Progr. Forensic Genet.* 7: 381-383.
61. Spinella A., Marsala P., Biondo R., Montagna P. (1997): Italian population allele and genotype frequencies for the AmpliType[®] PM and the HLA-DQ-alpha loci. *J. Forensic Sci.* 42: 514-518.
62. Aler M., Lareu M.V., Verdu F., Pestoni C., Gisbert M.S. (1996). HLA-DQA1 and D1S80 in the population of Valencia (Spain). *Advanced in Forensic Haemogenetics*. 6: 478-479.

63. Scholl S., Budowle B., Radecki K. y Salvo M. (1996). Navajo, Pueblo, and Sioux population data on the Loci HLA-DQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, Gc, and D1S80. *J Forensic Sci.* 41(1):47-51.
64. Medintz I., Kingston C., Levine L., Fogarty P., Mar E., McCurdy L. y Kobilinsky L. (1998). *D1S80* allele frequencies in Hasidic and non-Hasidic New York City Jewish populations. *International Journal of Legal Medicine.* 111(5):273-5.
65. Budowle B., Baechtel FS., Smerick JB., Presley KW., Giusti AM., Parsons G., Alevy MC. y Chakraborty R. (1995). *D1S80* population data in African Americans, Caucasian, Southeastern Hispanic, Southwestern Hispanic and Orientals. *Journal of Forensic Science.* 40:38-44.
66. Sajantila A., Budowle B., Ström M., Johnsson V., Lukka M., Peltonen L. y Ehnhoim C. (1992). Amplifications of alleles at the *D1S80* locus by the polymerase chain reaction: comparison of a Finnish and a North American population sample, and forensic case-work evaluation. *Am. J. Hum. Genet.* 50:816-825.
67. Falcone E., Spadafora P., De Luca M., Ruffolo R., Brancati C. y De Benedictis G. (1995). *DYS19*, *D12S67*, and *D1S80* polymorphisms in population samples from southern Italy and Greece. *Hum Biol.* 67(5):689-701.
68. Thymann M., Nellemann L.J., Masumba G., Irgens M.L., Morling N. (1993). Analysis of fragment length polymorphism technique (AMP-FLP) frequency distribution in danes, intra and inter laboratory reproducibility of the technique. *Forensic Science International.* 60: 47-56.
69. Robinson SL., Gutowski SJ., van Oorschot R.A., Fripp Y. y Mitchell J. (1996). Genetic diversity among selected ethnic subpopulations of Australia: evidence from three highly polymorphic ADN loci. *Victoria Forensic Science Centre, Melbourne, Australia.* *Hum Biol.* 68(4):489-508.
70. Sebetan I.M., Hajar H.A. y Isobe E. (1998). Frequency distribution of *D1S80* (pMCT118) locus polymorphism in a Qatari population. *Hum. Biol.* 70(1):129-35.

Anexo A.-

Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los 3 sistemas genéticos de aplicación Forense entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

Tabla XVIII.- Comparación de las frecuencias genotípicas del sistema HLA-DQA1 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.. (Datos tomados de 33 y banco de datos del laboratorio de Genética Forense de la P.G.J.D.F.)

Genotipo	Valle de México n = 600	Comunidad Judía del D.F. n = 112	Genotipo	Valle de México n = 600	Comunidad Judía del D.F. n = 112
1.1, 1.1	0.0133	0.0089	1.3, 1.3	0	0
1.1, 1.2	0.0083	0.0089	1.3, 2	0.005	0.0178
1.1, 1.3	0.005	0.0089	1.3, 3	0.0166	0.0089
1.1, 2	0.0133	0.0357	1.3, 4	0.0266	0.0535
1.1, 3	0.055	0.0892	2, 2	0.0066	0
1.1, 4	0.075	0.125	2, 3	0.04	0.0178
1.2, 1.2	0.0033	0.0267	2, 4	0.0483	0.0892
1.2, 1.3	0.0083	0.0267	3, 3	0.0833	0.0446
1.2, 2	0.005	0.0178	3, 4	0.2766	0.125
1.2, 3	0.0483	0.0089	4, 4	0.17	0.1785
1.2, 4	0.0916	0.1071			

Tabla XIX.- Comparación de las frecuencias alélicas del sistema HLA-DQA1 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

Alelo	Valle de México n = 600	Comunidad Judía del D.F. n = 112
1.1	0.0916	0.1428
1.2	0.0841	0.1116
1.3	0.0308	0.058
2	0.0625	0.0892
3	0.3016	0.1696
4	0.429	0.4285

Tabla XX.- Comparación de las frecuencias genotípicas del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.. (Datos tomados de 33, 34 y banco de datos del laboratorio de Genética Forense de la P.G.J.D.F.)

Genotipo	Valle de México n = 705	Comunidad Judía del D.F. n = 115	Genotipo	Valle de México n = 705	Comunidad Judía del D.F. n = 115
LDLR-AA	0.3025	0.2173	HBGG-CC	0	0
LDLR-AB	0.4687	0.4782	D7S8-AA	0.3764	0.2869
LDLR-BB	0.2286	0.3043	D7S8-AB	0.4687	0.5739
GYP A-AA	0.4275	0.3043	D7S8-BB	0.1548	0.1391
GYP A-AB	0.463	0.5565	GC-AA	0.0355	0.0521
GYP A-BB	0.1093	0.1391	GC-AB	0.1193	0.0782
HBGG-AA	0.1065	0.1565	GC-AC	0.2045	0.426
HBGG-AB	0.4446	0.4521	GC-BB	0.0823	0.0174
HBGG-AC	0.0113	0.0173	GC-BC	0.3295	0.1565
HBGG-BB	0.4275	0.3365	GC-CC	0.2286	0.2695
HBGG-BC	0.0099	0.0173			

Tabla XXI.- Comparación de las frecuencias alélicas del sistema Polymarker entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

Alelo	Valle de México n = 705	Comunidad Judía del D.F. n = 115	Alelo	Valle de México n = 705	Comunidad Judía del D.F. n = 115
LDLR-A	0.5369	0.4565	HBGG-C	0.0106	0.0173
LDLR-B	0.463	0.5434	D7S8-A	0.6108	0.5782
GYP A-A	0.659	0.5826	D7S8-B	0.3892	0.4217
GYP A-B	0.3409	0.4173	GC-A	0.1974	0.3
HBGG-A	0.3345	0.3913	GC-B	0.3068	0.1347
HBGG-B	0.6548	0.5913	GC-C	0.4957	0.5652

Tabla XXII.- Comparación de las frecuencias genotípicas del sistema D1S80 entre el Valle de México, y la comunidad Judía del D.F. (Datos tomados de 33, 41 y banco de datos del laboratorio de Genética Forense de la P.G.J.D.F.)

Genotipo	Valle de México n = 385	Comunidad Judía del D.F. n = 105	Genotipo	Valle de México n = 385	Comunidad Judía mexicana n = 105
14,41	0.0026	0	23,23	0.0026	0
16,16	0.0026	0	23,25	0.0026	0
16,18	0.0181	0	23,29	0.0026	0
16,24	0.0103	0	23,30	0.0026	0
16,25	0.0052	0	24,24	0.0597	0.2000
16,27	0.0026	0	24,25	0.0285	0.0380
16,28	0.0026	0	24,26	0.0052	0.0095
16,31	0.0026	0	24,27	0.0103	0
17,17	0.0078	0	24,28	0.0181	0.1428
17,18	0.0052	0	24,29	0.0103	0.0190
17,24	0.0026	0	24,30	0.0363	0.0095
17,29	0.0026	0	24,31	0.0285	0.0666
18,18	0.1220	0.0190	24,32	0.0052	0
18,20	0.0129	0.0095	24,34	0.0052	0
18,21	0.0103	0	24,35	0.0026	0
18,22	0.0026	0	24,36	0.0026	0
18,23	0.0026	0	25,25	0.0181	0.0095
18,24	0.1350	0.1619	25,28	0.0052	
18,25	0.0337	0.0285	25,29	0.0078	0
18,27	0.0103	0	25,30	0.0285	0
18,28	0.0103	0.0190	25,31	0.0207	0
18,29	0.0103	0.0190	25,33	0.0026	0
18,30	0.0649	0.0095	26,26	0.0078	0
18,31	0.0415	0.0095	26,29	0	0.0095
18,32	0.0052	0	26,30	0.0052	0
18,34	0	0.0095	27,30	0.0052	0
19,25	0.0026	0	27,40	0.0026	0
19,29	0.0026	0	28,28	0.0026	0.0190

19,30	0.0026	0	28,29	0.0103	0
20,24	0.0052	0.0095	28,30	0.0103	0
20,25	0.0026	0	28,31	0.0103	0.0190
20,31	0.0026	0	28,34	0.0026	0
21,23	0.0026	0	29,29	0.0052	0
21,24	0.0052	0.0666	29,30	0.0052	0.0190
21,25	0.0026	0	29,31	0.0052	0.0095
21,28	0.0026	0.0095	30,30	0.0155	0.0095
21,30	0	0.0095	30,31	0.0103	0
22,24	0.0103	0.0380	30,34	0.0026	0
22,28	0.0052	0	30,36	0.0026	0
22,30	0.0026	0	31,31	0.0078	0
22,31	0.0052	0			

Tabla XXIII.- Comparación de las frecuencias alélicas del sistema D1S80 entre el Valle de México y la Comunidad Judía del D.F.

Alelo	Valle de México n = 385	Comunidad Judía del D.F. n = 105	Alelo	Valle de México n = 385	Comunidad Judía del D.F. n = 105
14	0.0013	0	27	0.0155	0
16	0.0233	0	28	0.0415	0.1142
17	0.0129	0	29	0.0337	0.0380
18	0.3039	0.1523	30	0.1051	0.0333
19	.0039	0	31	0.0714	0.0523
20	0.0116	0.0095	32	0.0052	0
21	0.0116	0.0428	33	0.0013	0
22	0.0129	0.0190	34	0.0052	0.0047
23	0.0090	0	35	0.0013	0
24	0.2207	0.4809	36	0.0026	0
25	0.0896	0.0428	40	0.0013	0
26	0.0129	0.0095	>41	0.0013	0

ANEXO B.- TÉCNICAS Y REACTIVOS

Técnicas

I.- Extracción de DNA.

Se utilizaron 2 técnicas para la extracción del DNA de las muestras sanguíneas, la primera con el kit de extracción de LIFECODES Corporation descrita en el manual de trabajo de Perkin Elmer y la segunda empleando Chelex al 5%, que es una resina con un pH 11, quelante de iones metálicos divalentes.

LIFECODES.

- 1.- Tomar 1ml. de sangre periférica y colocarla en un tubo estéril de 1.5 ml. de capacidad, centrifugar a 10,000 rpm.
- 2.- Desechar el plasma y agregar 0.5 ml. de buffer de lisis de células y agitar con el vortex hasta deshacer el botón, centrifugar a 8,000 rpm.
- 3.- Desechar el sobrenadante y agregar 0.5 ml. de Buffer de lisis de celular, agitar con el vortex y centrifugar a 8,000 rpm. Este paso se repite 2 veces.
- 4.- Se desecha el sobrenadante y cuando se observa el botón blanco, se le agrega 0.5 ml. de buffer de lisis de proteínas, agitar con el vortex y centrifugar a 8,000 rpm.
- 5.- Preparar una mezcla maestra con lo siguiente, 225 μ l de buffer de lisis de proteínas y 25 μ l de Proteinasa K (10 mg/ml) por cada muestra.
- 6.- Desechar el sobrenadante y agregar 250 μ l de la mezcla maestra, colocar la muestra 2 hr a 56 °C.
- 7.- Cuantificar la muestra.

CHELEX®

- 1.- Colocar 3 μ l de sangre total en tubo estéril de microcentrifuga de 1.5 ml.
- 2.- Adicionar 1 ml de agua desionizada estéril, mezclar suavemente e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar ocasionalmente por inversión.
- 3.- Centrifugue las muestras a 10,000 rpm durante 2 minutos.
- 4.- Remueva todo el sobrenadante a excepción de 30 μ l de cada muestra y deseche.
- 5.- Adicione Chelex® al 5% hasta un volumen final de 200 μ l.
- 6.- Incubar la muestra a 56°C de 20 a 30 minutos.
- 9.- Agite las muestras en vortex de 5 a 10 segundos dos veces durante el tiempo de incubación.
- 8.- Hervir las muestras durante 8 minutos.
- 9.- Centrifugar las muestras a 10,000 rpm durante 2 minutos.
- 11.- Amplificar las muestras por PCR utilizando 20 μ l de sobrenadante para los sistemas HLADQA1 y Polymarker y 15 μ l para el sistema D1S80.
- 12.- Almacene el DNA genómico en el refrigerador de 2 a 8°C.

Para la extracción del DNA de células de la mucosa oral fijadas en alcohol se emplea la siguiente técnica.

- 1.- Tomar 400 μ l de saliva y centrifugar a 12,000 rpm durante 5 minutos, desechar el sobrenadante y lavar el botón o pellet con 0.5 ml de buffer de digestión, centrifugar y desechar el sobrenadante.

2.- Adicionar 0.5 ml. de buffer de digestión, 15 μ l de proteinasa K (10mg/ml) y 8 μ l de DTT, incubar a 56°C durante dos horas, cada 15 o 20 minutos agitar vigorosamente la muestra.

3.- Terminado el tiempo, centrifugar a 12,000 rpm durante 5 minutos, colocar el sobrenadante en otro tubo estéril de 1.5 ml y desechar el botón.

4.- Agregar el mismo volumen de etanol absoluto frío e invertir el tubo varias veces y congelar la muestra por 30 minutos.

5.- Centrifugar a 10,000 rpm a una temperatura de 4°C durante 5 minutos.

6.- Decantar el sobrenadante y adicionar 1.0 ml de etanol al 70% a temperatura ambiente, centrifugar a 10,000 rpm por 15 minutos y decantar.

7.- Evaporar el exceso de alcohol y posteriormente disolver la muestra en buffer TE o en agua libre de nucleasas.

8.- Cuantificar la muestra

II.- Cuantificación del DNA en gel de agarosa

La cuantificación del DNA se realiza mediante una electrofóresis.

1.- El corrimiento electroforético se llevo a cabo con agarosa BRL grado electrofóresis, concentración del 1% en buffer TAE 1x. Para la preparación del gel se realizó lo siguiente: pesar 1 g de agarosa y disolver en 100 ml de buffer TAE 1X, calentar hasta que se fundan totalmente los granos de agarosa, colocar en moldes de 11 x 14 cm. con un peine para formar los pozos.

2.- Mezclar 7 μ l de DNA genómico y un 1 μ l de loading buffer y aplicar. Colocar en el gel estándares de concentración de DNA de 1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 50 y 100 ng/ μ l.

3.- Correr el gel a 100 voltios aproximadamente por una hora, terminado el tiempo colocarlo en 200 ml. de agua con 3 μ l de bromuro de etidio (0.5mg/ml) durante 10 minutos.

4.- Lavar el exceso de bromuro con agua, colocar el gel en un transiluminador de luz UV para determinar la fluorescencia y realizar la comparación de las muestras con los estándares de concentración.

III.- Amplificación mediante PCR de los 3 sistemas genéticos de identificación forense utilizados en el estudio.

La amplificación de las secuencias específicas de DNA para cada marcador se realizó por medio de la PCR. Los kits comerciales, contienen una mezcla de reacción que se fracciona en tubos de 0.5 ml, con 40 μ l en el caso de HLA DQ alpha y Polymarker y con 20 μ l en el caso de D1S80.

Para los sistemas HLADQA1 y Polymarker se utilizan las siguientes condiciones de amplificación

1.- Marcar los tubos que contienen la mezcla de reacción con el número correspondiente.

2.- Adicionar 40 μ l de cloruro de magnesio $MgCl_2$ 8mM. para HLADQA1 y 40 μ l de primer para Polymarker a cada tubo

3.- Poner dos gotas de aceite mineral a cada tubo.

4.- Colocar de 1 a 20 μ l de DNA genómico para obtener una concentración final de 2 a 15 ng.

5.- Llevar las muestras al termociclador y programar 32 ciclos con las siguientes condiciones:

- ◆ Desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos.
- ◆ Alineamiento a 60 °C durante 30 segundos.
- ◆ Extensión a 72 °C durante 30 segundos.

Después de los 32 ciclos de amplificación, se realiza un ciclo de extensión a 72 °C durante 10 minutos.

En cada amplificación se incluye una muestra como control positivo, que consiste de un DNA genómico conocido que contiene el kit comercial. De igual manera se incluye un control negativo que únicamente lleva la mezcla de reacción, $MgCl_2$ 8mM y 20 μ l de agua.

Para el sistema Genético Forense D1580 se utilizaron las siguientes condiciones de amplificación:

- 1.- Marcar los tubos que contienen la mezcla de reacción con el número correspondiente.
- 2.- Adicionar 10 μ l de $MgCl_2$ 5mM a cada tubo.
- 3.- Poner una gota de aceite mineral a cada tubo.
- 4.- Colocar de 1 a 20 μ l de DNA genómico para obtener una concentración final de 2 a 15 ng.
- 5.- Llevar las muestras al termociclador y programar 29 ciclos con las siguientes condiciones:

- ◆ Desnaturalización a 94 °C durante 60 segundos.
- ◆ Alineación a 65 °C durante 60 segundos.
- ◆ Extensión a 72 °C durante 60 segundos.

Después de los 29 ciclos de amplificación, se realiza un ciclo de extensión durante 10 minutos a 72 °C.

Realizar un gel con agarosa de separación de productos de PCR al 4% (4 g. en 100 ml de buffer TAE 1X), para verificar la amplificación de las muestras. Aplicar y correr las muestras como se indica en la sección 2.

IV.- Hibridación por reverso de dot blot para la obtención de los genotipos de los sistemas HLA-DQA1 y Polymarker.

Para la obtención de los genotipos de ambos sistemas se utilizan unas tiras o sondas de hibridación de nylon.

A) Hibridación del sistema genético HLA-DQA1.

- 1.- Colocar las sondas de hibridación en una charola con 8 canales y etiquetarlas.
- 2.- Desnaturalizar en el termociclador a 95°C el producto amplificado por PCR de 3 a 10 minutos.
- 3.- Preparar la siguiente mezcla por cada sonda:
 - ◆ 3.3 ml. de solución hibridizadora
 - ◆ 27 μ l de enzima conjugada.
- 4.- Colocar 3ml de la mezcla en cada uno de los canales que contienen las sondas.

5.- Tomar 35 μ l del DNA amplificado y desnaturalizado y adicionarlo a la sonda correspondiente.

6.- Colocar la charola a 55°C y agitar a 50 rpm durante 20 minutos.

7.- Desechar la solución y secar, adicionar 10 ml. de solución lavadora a cada sonda y agitar durante algunos segundos a temperatura ambiente, desechar y secar.

8.- Agregar 10 ml. de solución lavadora por cada sonda, colocar a 55°C y agitar a 50 rpm durante 12 minutos.

9.- Repetir el paso 7. Agregar 10 ml. de solución lavadora por cada sonda, colocar a 55°C y agitar a 50 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente.

10.- Desechar la solución y secar. Agregar 10 ml. de buffer de citratos a cada sonda y agitar a 50 rpm a temperatura ambiente durante 5 minutos.

11.- Durante el lavado con buffer de citratos, preparar para cada sonda el desarrollo de color con lo siguiente:

- 10 ml. de buffer de citratos
- 10 μ l de peróxido al 3%
- 0.5 ml. de solución cromogena (TMB)

12.- Transcurridos los 5 minutos desechar la solución de la charola y secar.

13.- Agregar 10 ml. de la solución desarrollo de color a cada sonda y tapar con un plástico negro, para evitar la luz.

14.- Agitar a 50 rpm a temperatura ambiente de 10 a 30 minutos, una vez desarrollado el color, desechar la solución y colocar las sondas en un recipiente con agua desionizada.

15.- Observar los puntos azules presentes en las sondas y tipificar para obtener el genotipo.

A) Hibridación del sistema genético Polymarker.

1.- Colocar las sondas de hibridación en una charola con 8 canales y etiquetarlas.

2.- Desnaturalizar a 95°C el producto amplificado por PCR de 3 a 10 minutos.

3.- Adicionar 3.3 ml. de solución hibridizadora por cada tira.

4.- Tomar 20 μ l del DNA desnaturalizado, adicionarlo a la sonda correspondiente.

5.- Colocar las muestras a 55°C y agitar a 50 rpm durante 15 minutos.

6.- Preparar una mezcla 3.3 ml. de solución hibridizadora y 27 μ l de enzima conjugada por cada sonda (5 minutos antes de que termine el tiempo del paso 6).

7.- Terminados los 15 minutos de incubación, desechar la solución de la charola y secar, adicionar 5ml. de solución lavadora precalentada y agitar durante algunos segundos, desechar y secar.

8.- Adicionar 3.3 ml. de la mezcla preparada en el paso 6 a cada sonda e incubar a 55°C, agitar a 50 rpm durante 5 minutos.

9.- Desechar la solución y secar, realizar un lavado como se indica en el paso 7 pero con solución lavadora a temperatura ambiente.

10.- Adicionar 5ml. de solución lavadora por cada sonda e incubar durante 12 minutos a 55°C y agitar a 50 rpm.

11.- Desechar la solución y secar, repetir paso 9 y posteriormente adicionar 5 ml. de buffer de citratos a cada sonda, colocar y agitar a 50 rpm a temperatura ambiente durante 5 minutos.

12.- Durante el lavado con buffer de citratos, preparar por cada sonda el desarrollo de color con lo siguiente:

- 5 ml. de buffer de citratos
- 5 μ l de peróxido al 3%
- 0.25 ml. de solución cromogena (TMB)

- 13.- Transcurridos los 5 minutos desechar la solución de la charola y secar.
- 14.- Agregar 5 ml. de la solución desarrollo de color a cada sonda y tapar con plástico negro, para evitar la luz.
- 15.- Agitar a 50 rpm a temperatura ambiente de 10 a 30 minutos, una vez desarrollado el color, desechar la solución y colocar las sondas en un recipiente con agua desionizada.
- 16.- Observar los puntos azules presentes en las sondas e interpretar para obtener el genotipo.

V.- Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) para la determinación de los genotipos del locus D1S80.

Preparación del gel.

1.- Colocar en vaso de precipitado 30 ml de agua desionizada, 2 ml de buffer TBE 10 X, y 8 ml de gel concentrado de alta resolución (GDG), agitar levemente. Agregar 400 µl de persulfato de amonio al 10 % y 20 µl de TEMED. Colocar la mezcla entre las placas de vidrio de la cámara de electroforesis vertical con espaciadores de 0.8 mm, insertar un peine en la parte superior para la formación de los pozos y por último dejar Polimerizar.

El GDG es un Kit comercial distribuido por la compañía Applied Biosystems: GeneAmp Detection Gel que a comparación de la poliacrilamida convencional presenta una mejor resolución para fragmentos de ácidos nucleicos de un rango de 50 a 2000 pares de bases. El TEMED es el N, N, N', N' tetrametil etilén diamina.

Una vez polimerizado el gel:

- 1.- Colocar 10 µl de la muestra amplificada y 10 µl de ladder cada 3 muestras.
- 2.- Ya cargado con las muestras correr el gel durante 1 ½ horas a 300 volts.
- 3.- Terminado el tiempo, dejar enfriar el gel aproximadamente 15 minutos, desprender las placas de vidrio y cortar un extremo superior del gel para indicar el inicio de la aplicación de las muestras.
- 4.- Colocar el gel en bromuro de etidio durante 15 minutos y visualizar con luz UV para determinar los alelos presentes mediante la comparación del ladder.

Interpretación de los genotipos.

Para interpretar los alelos presentes en cada muestra se realiza una comparación utilizando como referencia un ladder o patrón alélico de bandas con un peso molecular conocido, integrado por 27 alelos o bandas que empiezan a partir del alelo 14 no existiendo el 15 hasta el 41 y >41, posteriormente se realiza la comparación.

REACTIVOS

1. Kit de extracción de DNA LIFECODES
Bufér de lisis celular (Cell Lysis Buffer), contiene sacarosa, MgCl₂ y Tritón X-100.
Bufér de lisis de proteínas (Protein Lysis buffer), contiene Na₂EDTA y NaCl.
2. Chelex 100 Sigma Bio Rad
Pesar 0.5 g de Chelex y aforar a 10 ml.

3. Buffer de digestión

Concentración final

1.22gr. de Tris base

10mM

24.4gr. NaCl

400mM

0.75g. Na₂EDTA

2mM

Disolver todos los reactivos en 800 ml. de agua destilada desionizada, ajustar el pH a 8.2 usando HCl 6N. Colocar la solución en un matraz volumetrico de 1 litro y aforar con agua destilada desionizada.

4. Proteinasa K (5mg/ml)

Disolver 100mg de proteínasa K en 10 ml de agua desionizada, transferir a un matraz de 25 ml y se agregan otros 10 ml de agua desionizada. Dispensar la solución anterior en alícuotas de 0.5 ml y almacenar a -20° C.

5. Dithiotreitol. (DTT) 0.039 M

Disolver 0.06 g de DTT en 10 ml de agua desionizada.

6. Bromuro de Etidio Solución 1000X (0.5mg/ml)

Añadir 50 mg de bromuro de etidio en 80 ml de agua destilada. Aforar a 100 ml.

7. SDS al 20 % (Dodecil sulfato de sodio)

Disolver 200g de dodecil sulfato de sodio en 800 ml de agua desionizada en vaso de precipitado, calentar si es necesario a 37 °C en baño maría para disolver completamente. Aforar a un litro.

8. EDTA 0.5 M pH 8.0

Disolver 186.1 g de etiléndiamino tetraacetato de sodio (Na₂EDTA 2H₂O) en 800 ml de agua desionizada, ajustar el pH a 8.0 (± 0.2) con aproximadamente 20 g de NaOH y aforar a un litro.

9. 20 x SSPE

Disolver 7.4 g de EDTA en 800 ml de agua desionizada. Ajustar el pH a 6.0 (± 0.2) con hidróxido de sodio 10 N. Adicionar 210 g de cloruro de sodio y 27.6 g de fosfato de sodio monobásico, monohidratado (NaH₂PO₄ H₂O). Ajustar el pH a 7.4 (± 0.2) con hidróxido de sodio 10 N y por último aforar a un litro.

10. Solución Hibridizadora

Colocar en un matraz aforado de un litro 250 ml de 20X SSPE y 25 ml de SDS al 20% posteriormente aforar.

11. Solución Lavadora.

Colocar 250 ml de 20X SSPE y 10 ml de SDS 20% y aforar a 2 litros.

12. Buffer de Citratos

Disolver 18.4 g de citrato de sodio dihidratado (Na₃C₆H₅O₇ 2H₂O) en 800 ml de agua desionizada, ajustar el pH a 5.0 (± 0.2) adicionándole 6 g de ácido cítrico monohidratado (C₆H₈O₇ H₂O), aforar a un litro.

13. Kit AmpliType HLA DQ alpha PCR Amplification and Typing**

Perkin Elmer contiene:

Mezcla de Reacción 2.4 ml. Contiene primers , AmpliTaq DNA polimerasa , dATP, dGTP, dTTP y dCTP en buffer.
MgCl₂ solución 8 mM.- 2 tubo con 1.5 ml
Control positivo de DNA 0.2 ml. Concentración de 100 ng/ml., presentando el genotipo 1,1,4
Aceite mineral 5 ml.
50 membranas de hibridación
Enzima conjugada HRP-SA conteniendo 2 ml estreptoavidina peroxidasa disuelta en buffer.
Cromógeno TMB contiene 60 mg de 3,3',5,5'- tetrametilbenzidina. Disolver en 30 ml de etanol absoluto.

14. AmpliType PM PCR Amplification and Typing Kit.**
Perkin Elmer contiene:

Mezcla de reacción para PCR.- AmpliTaq DNA polimerasa, MgCl₂, dATP, dGTP, dTTP y dCTP en buffer salino. 2.4 ml
Primer - 2 tubos. Contienen 12 primers marcados con biotina en buffer salino. 1.2ml /tubo.
Control positivo de DNA con una concentración de 100 ng/ml., presentando el genotipo BB, AB, AA, AB Y BB para los loci LDLR, GYPA, HBG₂, D7S8 y GC respectivamente. 0.2 ml
Aceite mineral 5 ml.
50 membranas de hibridación
Enzima conjugada HRP-SA conteniendo 2 ml estreptoavidina peroxidasa disuelta en buffer.
Cromógeno TMB contiene 60 mg de 3,3',5,5'- tetrametilbenzidina. Disolver en 30 ml de etanol absoluto.

** Actualmente se unieron los dos kits y se adquiere con el nombre AmpliType PM+DQA1 PCR amplification and Typing Kits, distribuidos por Applied Biosystems.

15. AmpliFLP™ D1S80 PCR Amplification Kit
Applied Biosystems contiene:

Mezcla de Reacción 1.1 ml. Contiene dos primers , AmpliTaq DNA polimerasa , dATP, dGTP, dTTP y dCTP en buffer.
MgCl₂ solución 5 mM.- tubo con 1.5 ml
Aceite mineral 5 ml
Control de DNA 0.2 ml. - Tubo conteniendo 250 ng/ml de DNA genómico humano, con el genotipo 18, 31.
Ladder alélico.- 0.2 ml- Contiene 27 alelos amplificados 14, 16 hasta 41.

GLOSARIO

Adenina (A): Base púrica que se encuentra en el DNA y RNA. En secuencias duplex de DNA la adenina se aparea con timina y en el RNA con uracilo.

Alelo: Formas alternativas de un gen en un mismo locus.

Alélica Frecuencia: Proporción de un alelo presente en una población determinada.

Aminoácido: Una de las 20 moléculas que por combinación da origen a las proteínas, la secuencia de aminoácidos que da origen a una proteína esta determinada por el código genético.

Amplificación: Un incremento en el número de copias de un fragmento específico del DNA, ya sea in vivo o in Vitro.

Base par: Dos nucleótidos complementarios unidos por enlaces de hidrógeno que se presentan entre A y T y entre G y C.

Centrómero: Región especializada del cromosoma eucarionte nuclear al cual las fibras del huso se unen durante la división celular. La ubicación del centrómero en el cromosoma determina si un cromosoma es telocéntrico (centrómero en extremo), acrocéntrico (centrómero cercano a extremo), submetacéntrico (centrómero cercano a posición media) ó metacéntrico (centrómero en posición media).

Citosina (C): Base pirimídica que se encuentra en DNA y RNA. En secuencias de doble hebra se une mediante tres enlaces por puente de hidrógeno con G.

Codominancia : Condición en la cual el heterocigoto exhibe el fenotipo de ambos homocigotos. Ambos alelos producen efectos detectables en condición heterocigota.

Cromosoma: Estructura por la cual la información hereditaria es físicamente transmitida de una generación a la próxima, son portadores de los genes y corresponde a una molécula de DNA acomplejada con proteínas y RNA. Los cromosomas eucariontes son lineales y poseen centrómero y generalmente se presentan en pares.

DNA Polimerasa: Enzima que cataliza la síntesis de DNA, requiere de DNA templado ó molde, de DNA iniciador y de los 4 dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).

DNA satélite: secuencias de DNA repetido y se designa por la longitud de la unidad de repetición.

DNA minisatélite: secuencia repetida con una longitud media entre 10 y 100 bases, presentando un tamaño total de 400 a 1000 pares de bases. (VNTR)

DNA microsatélite. - secuencias de DNA repetidas con una longitud de 2 a 6 bases, presentando un tamaño total de 100 a 400 pares de bases (STR)

dNTP : deoxinucleósido trifosfato. Se distinguen el dATP, dCTP, dTTP y dGTP. El grupo trifosfato se encuentra siempre localizado en posición 5'. Son los precursores utilizados en reacciones de polimerización de DNA en la -PCR.

Deriva Génica: Variación al azar en la frecuencia génica de generación en generación. Ocurre comúnmente en poblaciones pequeñas.

Desnaturalización: Proceso de separación de la doble hélice complementaria del DNA para generar cadenas simples, generalmente ocurre por calentamiento.

Electroforesis: Técnica de separación mediante la acción de un campo eléctrico en donde las moléculas se separan de acuerdo a su carga y tamaños.

Enzima de Restricción ó Endonucleasas de Restricción : Enzima que reconoce una secuencia específica entre 4 a 6 pares de bases de DNA de doble hebra y corta un enlace fosfodiéster en cada una de las hebras. Generan segmentos discretos de DNA.

Fenotipo : Propiedades observables del genotipo y en el cual contribuye el medio ambiente.

Flujo Génico : Intercambio de genes (en una ó ambas direcciones) a una baja tasa entre dos poblaciones.

Gene: Unidad física y funcional de la herencia que ocupa una posición específica en el cromosoma

Genotípica Frecuencia: La ocurrencia relativa de un genotipo en particular en una población.

Genotipo : Constitución genética de un organismo.

Genoma: Contenido total de material genético de una célula u organismo. Incluye la material genético nuclear y citoplasmático.

Guanina (G): Base púrica presente en DNA y RNA. En secuencias duplex se aparea con citosina mediante tres enlaces por puente de H.

Heterocigoto: Se refiere a la existencia de diferentes alelos en un locus.

Homocigoto: Se refiere a la existencia de alelos iguales en un locus.

Kilobase (Kb) : Unidad de longitud de ácidos nucleicos correspondiente a 1000 nucleótidos.

Ley de Hardy-Weinberg : Principio que sostiene que las frecuencias de alelos y de genotipos permanecerán en equilibrio en una población infinitamente grande, donde los individuos se cruzan al azar y en ausencia de mutación, migración y selección.

Locus: Localización específica de un gen en el cromosoma

Marcador Genético: características identificables transmitidas de padres a hijos controlados rigurosamente por genes situados en un par de cromosomas homólogos.

Mutación: Cualquier cambio en la secuencia del DNA.

Nucleasa: Enzima que cataliza la degradación de ácidos nucleicos rompiendo los enlaces fosfodiésteres.

Nucleótido: Unidad del ácido nucleico compuesto por fosfato, ribosa o desoxirribosa y una base púrica o pirimídica.

Núcleo: Organelo células en eucariontes que contiene el material genético.

Numero variable de repeticiones en tándem (VNTR): Unidades repetidas de una secuencia del DNA el cual varía en número entre individuos.

Oligonucleotido: Secuencia lineal de nucleótidos (hasta 20).

Polimerasa, DNA o RNA: Enzima que cataliza la síntesis de ácidos nucleicos sobre la base de una cadena de ácidos nucleicos.

Polimorfismo: Diferencia en la secuencia del DNA entre individuos. Una variación genética presente en más del 1% de la población podría ser considerada como un polimorfismo.

Población Mendeliana : Grupo de individuos de la misma especie que se cruzan entre sí y comparten el mismo acervo genético. Es la unidad básica de estudio en genética de poblaciones.

Proteína: Una molécula larga compuesta de una o más cadenas de aminoácidos en un orden específico.

Reacción en Cadena de la Polimerasa: Un proceso in Vitro que rinde millones de copias de una secuencia específica del ADN a través de ciclos de temperatura repetidos.

Reacción en Cadena de la Polimerasa : Es un método in vitro para la amplificación enzimática que rinde millones de copias una secuencia específica de DNA. Utiliza iniciadores y la Taq DNA polimerasa. La amplificación ocurre a través de ciclos de denaturación, alineamiento de los primers y extensión.

RFLP: Fragmento de restricción de longitud polimórfica, que se refieren a variaciones entre individuos. Para obtener un patrón de RFLP se debe aislar DNA, se digiere con enzimas de restricción y se analizan mediante un Southern Blot hibridándose con una sonda marcada.

Secuenciación: Determinación del orden de los nucleótidos en el DNA.

Segregación : Transmisión al azar de alelos de un locus de padres a hijos via meiosis. También conocido como primera ley de Mendel.

Repeticiones Cortas en Tandem (STR): Copias múltiples de una secuencia idéntica del ADN arreglados en una sucesión directa de una región particular en el cromosoma.

Timina: Una de las cuatro bases que constituyen a la molécula del DNA, designada con la letra T.