

## Herramienta genética para aplicar en cuerpos no identificados en Colombia

### Genetic tool to be applied to unidentified bodies in Colombia

Yeny Cecilia Posada-Posada <sup>1\*</sup>, Johemir Pérez-Pertuz <sup>1</sup>, Carlos Hurtado-Martinez <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Investigación Criminal - Colombia

\*Correo para correspondencia: [yenyposada@gmail.com](mailto:yenyposada@gmail.com)

#### RESUMEN

Esta investigación tiene como propósito aportar a la comprensión de nuevas herramientas para aplicar en cuerpos no identificados con base a los marcadores genéticos STRs, que cuenta con un elevado poder de discriminación una heterocigosis observada superior al 70%; localización cromosómica distante o, idealmente, en cromosomas distintos para asegurar una segregación independiente; robustez y reproducibilidad de resultados en PCR multiplex. Además de una producción de fragmentos de PCR menor a 500 pares de bases para lograr un mejor rendimiento en muestras con ADN degradado. Adicionalmente, se analizan otras variables, tales como clasificación de los Indels, distribución de frecuencias alélicas de los marcadores Indels, índices de fijación FST, distribución de las frecuencias alélicas para Región Andina Central, entre otros. Entre las conclusiones más relevantes del estudio se destaca la creación de bases de datos de referencia de diferentes regiones del país para un panel de 38 marcadores Indels de fácil caracterización mediante una técnica de sencilla implementación en todos los laboratorios forenses existentes.

**Palabras clave:** marcadores, genética, forense, frecuencia, cuerpos.

#### ABSTRACT

The purpose of this research is to contribute to the understanding of new tools to be applied in unidentified bodies based on STRs genetic markers, which have a high discrimination power, observed heterozygosity higher than 70%; distant chromosomal locations or, ideally, in different chromosomes to ensure independent segregation; robustness and reproducibility of results in multiplex PCR. In addition to a PCR fragment yield of less than 500 base pairs to achieve better performance in samples with degraded DNA. Additionally, other variables are analyzed, such as Indels classification, the allelic frequency distribution of Indels markers, FST fixation indexes, and allelic frequency distribution for the Central Andean Region, among others. Among the most relevant conclusions of the study is the creation of reference databases from different regions of the country for a panel of 38 Indels markers of easy characterization using a technique of simple implementation in all existing forensic laboratories.

**Keywords:** markers, genetics, forensic, frequency, bodies.

---

## INTRODUCCIÓN

En Colombia las cifras de desaparecidos y de cuerpos sin identificar son alarmantes. A 31 de mayo de 2014 de 5551 cuerpos exhumados, solo se identificaron y entregaron a sus familiares 2546 (54 %) (Fiscalía General de la Nación de Colombia, 2014). ¿Qué sucede con el resto de los cuerpos exhumados? ¿Por qué no han sido identificados? Es bien sabido que las características del ADN, presentes en los restos óseos, como son la calidad y cantidad, pueden estar afectadas por varias circunstancias, entre ellas, el lugar de enterramiento, la humedad y la temperatura, los microorganismos, sustancias químicas propias de los suelos y el tiempo que lleva sepultado el cuerpo, entre otros. Esto conlleva a que, finalmente en la muestra biológica se puedan presentar sustancias que inhiben procesos posteriores de análisis del ADN como la amplificación o PCR (Polymerase Chain Reaction).

En general, los restos óseos son considerados dentro del área forense, “muestras difíciles”, ya que no es fácil su análisis técnico-científico a nivel de laboratorio, especialmente relacionado con investigaciones en el ADN. En la actualidad, los marcadores genéticos Indels pretenden ser la mejor propuesta para complementar el análisis de este tipo de muestras, debido a su tamaño pequeño y a que permiten el análisis de muestras con poco molde de ADN y/o que han sufrido procesos de degradación del material genético; además de contar con una metodología técnica y un análisis muy sencillo.

La presente investigación, tiene como objetivo principal estudiar los polimorfismos inserción/delección Indels autosómicos como una herramienta genética para complementar la identificación plena de cuerpos no identificados en Colombia y generar una base de datos de frecuencias alélicas como instrumento estadístico para los laboratorios forenses del país que realizan pruebas de criminalística y/o filiación. Para lograr este objetivo se analizaron poblaciones de nueve departamentos del territorio colombiano, con el fin de establecer los parámetros genético-poblacionales para la identificación de individuos.

### **La identificación humana en genética forense**

Hoy por hoy, los laboratorios forenses extraen ADN de manera exitosa de muchos tipos de muestras forenses: la sangre, el semen, la saliva y el sudor; hisopados vaginales de una víctima de violación; diversos tejidos de restos humanos y posibles muestras de referencia de artículos personales Mestres, & Vives (2016).

Por otro lado, el ser humano comparte aproximadamente entre el 97% y el 99% del código genético. La información genética restante determina las diferencias individuales. Estas diferencias naturales, llamadas polimorfismos, ayudan a explicar la diversidad en la apariencia, la susceptibilidad a las enfermedades y las respuestas al medioambiente, entre otros (Pellegrino & Crespillo 2021). Estos polimorfismos genéticos se analizan actualmente (en investigación forense) mediante los marcadores STRs (Short Tandem Repeats), aunque también mediante nuevos marcadores genéticos, como los polimorfismos de un solo nucleótido, SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) y polimorfismos inserción/delección, Indels.

### **Marcadores genéticos STRs**

Los marcadores genéticos STRs cuentan con un elevado poder de discriminación (usualmente mayor que 0,9); una heterocigosis observada superior al 70%; localización cromosómica distante o, idealmente, en cromosomas distintos para asegurar una segregación independiente; robustez y reproducibilidad de resultados en PCR multiplex. Además de una producción de fragmentos de PCR menor a 500 pares de bases para lograr

---

---

un mejor rendimiento en muestras con ADN degradado.

### **Marcadores genéticos SNPs**

Los SNPs son la forma más sencilla de polimorfismo genético, ya que consisten en sustituciones, inserciones o deleciones de una sola base que ocurren en una sola posición del genoma de cualquier organismo (Delgado de la Flor, 2014). Se distribuyen de manera heterogénea por todo el genoma y se encuentran tanto en las regiones codificantes (exones) como no codificantes (intrones y región promotora). Un SNP es un cambio, mutación o pequeña variación que puede ocurrir en la secuencia de ADN de una persona. Aproximadamente el 85% de la variación humana se debe a los SNPs (Delgado de la Flor (2001).

El código genético es específico, y está formado por cuatro nucleótidos o “letras”, A (adenina), C (citocina), T (timina) y G (guanina); las variaciones SNP ocurren cuando un solo nucleótido, como una A, reemplaza uno de los otros tres, C, G o T.

Hoy en día, existen numerosos métodos de genotipificación de SNPs, incluyendo el ensayo de Snapshot, nucleasa y la minisequenciación; a su vez, se ha creado un kit que permite amplificar 52 SNPs a partir de 500pg (pico gramos) de ADN, obteniendo fragmentos entre 59 pb y 115pb de longitud.

Debido a estas características, los SNPs se han convertido en marcadores valiosos para el análisis de ADN proveniente de muestras forenses, sobre todo en los casos de ADN degradado (Senge et al., 2011), como, por ejemplo, muestras óseas que han sido expuestas al fuego (Fondevila et al., 2008).

### **Marcadores genéticos Indels**

Los polimorfismos de inserción/delección (Indels) son variaciones de longitud de la cadena de ADN creados por la inserción o delección de uno o más nucleótidos en la secuencia del genoma. Comprenden alrededor del 20% de todos los polimorfismos existentes en el ADN humano (Mills et al., 2006; Weber et al., 2002) y son marcadores derivados normalmente de un único evento de mutación. Por su naturaleza, estas mutaciones crean polimorfismos con dos estados alélicos (ancestral y mutante) y se denominan polimorfismos binarios o bialélicos (Pereira y Gusmão, 2012).

Estos marcadores genéticos presentan una diversidad genética menor que los STRs, lo cual es una desventaja para las aplicaciones forenses, pero también tienen varias características deseables, por ejemplo, su baja tasa de mutación ( $2.3 \times 10^{-9}$ ) los hace muy útiles para análisis en pruebas forenses y de paternidad.

Los Indels combinan ventajas de los STRs y los SNPs, ya que este tipo de polimorfismos, como los SNPs, presentan baja tasa de mutación y pueden ser analizados utilizando ampliaciones pequeñas, con técnicas simples y similares a las empleadas de rutina para los STRs (Fondevila et al., 2012; Manta et al., 2012).

Una de las principales ventajas de utilización de los Indels, como marcadores para identificación, es precisamente el tamaño de los amplicones generados (entre 50-150pb), lo que hace una gran diferencia al analizar muestras degradadas o difíciles como los restos óseos (Pereira et al., 2009; Romanini et al., 2012), comparados con los marcadores genéticos que actualmente se utilizan, como los STRs, cuyos amplicones oscilan aproximadamente entre 100pb y 400pb.

---

## **Análisis genético-poblacional de marcadores Indels en Colombia**

Para el análisis se seleccionó una muestra de 558 individuos al azar, residentes en los departamentos de Antioquia, Chocó, Huila, Meta, Nariño, Arauca, Cundinamarca, Boyacá y Bolívar, no relacionados biológicamente, previa aceptación y firma del consentimiento informado para estudios genéticos poblacionales. Dentro del departamento de Nariño, se seleccionó una muestra del grupo indígena, Los Pastos, el cual, para este estudio, se denomina Nativo: Pastos.

Para la realización de los cálculos genético-poblacionales y forenses se analizaron los resultados de las tipificaciones de las muestras a partir del software GeneMapper (Applied Biosystems), luego se exportaron los datos genotípicos en tablas ".txt", las cuales se ejecutan en el programa Microsoft Excel, para, posteriormente, ser analizadas por medio de los programas GeneAlex 6.5, Arlequin versión 3.5.1.3 y PowerStats V12.

### **Análisis de estructura poblacional**

Para determinar la estructura genética es necesario comprender el patrón de variación de la especie, lo que significa evaluar los genotipos de diferentes individuos y determinar las frecuencias alélicas de la población. Con el propósito de estimar la proporción de la variación genética que se encuentra dentro, y entre las poblaciones, se emplean los estadísticos  $F$  de Wright (1951), método basado en la idea de que la subdivisión de una población lleva consigo un efecto similar a la endogamia; y, por tanto, es posible medir este efecto en términos de la reducción en la proporción de genotipos heterocigóticos, es decir, en términos de  $H$ .

El efecto de la subdivisión de la población se mide por un parámetro denominado "índice de fijación" ( $F_{ST}$ ), que es la reducción promedio en la heterocigocidad de una subpoblación debido a la deriva genética por azar, esto es, el  $F_{ST}$  mide la reducción en la heterocigosis debida a diferenciación genética entre poblaciones (Duarte & Troncoso, 2017).

$F_{ST}$  es siempre mayor que (o igual a) cero, debido al efecto Wahlund, que asegura que  $H_T > H_S$  media. Si todas las subpoblaciones están en equilibrio Hardy-Weinberg con las mismas frecuencias alélicas, entonces  $F_{ST} = 0$ . A medida que  $F_{ST}$  aumenta la estructuración, aislamiento y diferencias entre las poblaciones. Donde  $H_T$  es el promedio de la heterocigosis esperada en la población total para todos los loci y  $H_S$  es el promedio de la heterocigosis esperada dentro de subpoblaciones para todos los loci.

Para determinar el índice de fijación  $F_{ST}$  de las poblaciones estudiadas, se analizaron los datos en software Arlequin versión 3.5.1.3, obteniendo los resultados que se presentan en la tabla 4.

Inicialmente, se observa que el grupo de poblaciones conformadas por los departamentos de Meta, Arauca, Huila, Cundinamarca-Boyacá y Antioquia no presentan diferencias significativas entre sí. A su vez, es notoria la diferencia que existe entre la población del Chocó y el resto de las poblaciones; del mismo modo se comportan las poblaciones de Nariño y Nativo, respecto a las demás poblaciones. La población de Bolívar no evidencia diferencias significativas con Arauca, pero sí con las demás regiones.

**Tabla 1**

*Índices de fijación FST (arriba) y respectivos P-value (abajo) para las poblaciones estudiadas*

	Meta	Arauca	Huila	Cund_Boyacá	Antioquia	Chocó	Nativo	Nariño	Bolívar
Meta									
Arauca	0,00108								
Huila	0,00195	0,00337							
Cund_Boyacá	-0,00059	0,00038	-0,00195						
Antioquia	0,00577	0,00374	0,00199	0,00176					
Chocó	0,04938	0,02608	0,04233	0,03482	0,02782				
Nativo	0,01851	0,01850	0,02503	0,02381	0,03543	0,07424			
Nariño	0,00822	0,00779	0,01364	0,00913	0,01898	0,05575	0,00129		
Bolívar	0,01209	0,00465	0,00920	0,00561	0,00821	0,01437	0,03806	0,02327	

	Meta	Arauca	Huila	Cund_Boyacá	Antioquia	Chocó	Nativo	Nariño	Bolívar
Meta									
Arauca	0,27027								
Huila	0,22523	0,01802							
Cund_Boyacá	0,58559	0,34234	0,94595						
Antioquia	0,01802	0,02703	0,09009	0,18018					
Chocó	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000				
Nativo	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000			
Nariño	0,00901	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,22523		
Bolívar	0,00000	0,01802	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	

La tabla 1 evidencia la comparación por pares de poblaciones o índices de fijación, lo que arrojó resultados significativos entre varias de ellas.

La distribución de variación genética global, evaluada mediante análisis de varianza molecular AMOVA, refleja que apenas 1,65% de la variación observada en los datos se debe a diferencias entre las poblaciones, mientras que más del 98% se debe a la variación genética existente entre individuos dentro de las poblaciones; esto prueba que los marcadores genéticos Indels utilizados son de gran provecho forense, debido a que son altamente discriminativos y potentes para la individualización.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos con el análisis de los índices de fijación y estudios anteriores, realizados con estas mismas muestras (Ibarra, Freire-Aradas, et al., 2014; Ibarra, Restrepo, et al., 2014), además de un estudio poblacional hecho con marcadores microsatélites CODIS en el año 2003 (Paredes et al., 2003) se decidió agrupar las poblaciones analizadas en 5 regiones: 1. Andina Central – Orinoquía: Meta, Arauca, Antioquia, Huila, Cundinamarca – Boyacá. 2. Región Pacífica del Norte de Colombia: Chocó. 3. Nativo: Pastos. 4. Andina Suroccidental: Nariño. 5. Caribe: Bolívar.

Al ejecutar un nuevo análisis de los índices de fijación FST, para los grupos de poblaciones que se proponen, se observa que todas las regiones presentan diferencias significativas, excepto entre Nariño y Nativo: Pastos. Una explicación de este fenómeno puede ser el bajo muestreo de la población de Nativos: Pastos; sin embargo, respecto a estas, se decide no juntarlas, debido a que cada una de ellas presenta evidencias de diferenciación significativa respecto a otras regiones del país y al soporte de diferenciación genética aportado por estudios anteriores con marcadores SNPs autosómicos (Ibarra, Freire-Aradas, et al., 2014) e Indels del cromosoma X (Ibarra, Restrepo, et al., 2014).

### **Análisis de desequilibrio de ligamiento (DL)**

En los resultados obtenidos en el análisis de desequilibrio de ligamiento por pares de loci en las poblaciones estudiadas, mediante el software Arlequín versión 3.5.1.3 y considerando inicialmente  $\alpha$  igual a 0,05, se observaron resultados significativos en varios pares de loci en todas las poblaciones analizadas. Se realizó un ajuste a los P-value de los análisis hechos para descartar los posibles falsos positivos, por medio de la corrección de Bonferroni, arrojando una  $\alpha$  ajustado de 0,0000711, con el cual permanecen finalmente tres pares de

loci en desequilibrio de ligamiento, estadísticamente significativo, en tres de las poblaciones en estudio.

En la población de Arauca hay DL entre los loci B02 y R06, ubicados en los cromosomas 1 y 20, respectivamente. En Nariño hay DL entre los loci Y05 y Y07, ubicados en los cromosomas 12 y 14, respectivamente. Y en la población de Bolívar hay DL entre los loci G01 y Y09, ubicados en los cromosomas 6 y 16, respectivamente. Importa destacar que los valores de DL significativos observados, no se mantienen transversalmente para un mismo par de marcadores o en todas las poblaciones, sustentando que quizá no se trate de real asociación entre esos loci, sino de otros efectos, por ejemplo, la deriva de muestreo. Además, todos los loci se ubican en cromosomas diferentes, lo que naturalmente conlleva una segregación independiente de alelos para cada uno de estos.

Haciendo una interpretación global, de los resultados obtenidos, y considerando la localización de los marcadores en el genoma, así como otros estudios utilizando este sistema (Manta et al., 2013), se estimó que, en el cálculo de parámetros estadísticos de interés forense, será posible tratar estos Indels como marcadores independientes y, por ende, aplicar con seguridad la regla del producto.

### **Análisis por pool genético**

El acervo genético de una especie o población es el grupo completo de alelos únicos que se encontrarían al inspeccionar el material genético de la totalidad de los individuos existentes en dicha población. Un acervo genético amplio se asocia a una diversidad genética amplia (Los diccionarios y las enciclopedias sobre el Académico, 2015).

Los análisis realizados, considerando inicialmente cada departamento como una población, dieron resultados que permitieron agrupamiento de algunas poblaciones mediante su homogeneidad genética. Según los datos FST, se puede observar un análisis por pool genético, en el cual se consideraron cinco regiones o poblaciones en total.

En concordancia con este pool por regiones, se realizaron de nuevo los cálculos de frecuencias alélicas y determinación del equilibrio de Hardy Weinberg. Este último arrojó resultados similares a los de las nueve poblaciones iniciales, es decir, que todos los marcadores Indels se encuentran en equilibrio. Asimismo, y considerando la necesidad de utilización de bases de datos de frecuencia propias en cada una de las 5 regiones de Colombia presentadas, se determinaron los correspondientes parámetros estadísticos forenses y de paternidad.

Las frecuencias alélicas servirán como base de datos para que los laboratorios de genética forense en Colombia puedan utilizarlas como soporte estadístico de los análisis de pruebas de filiación y criminalística para los 38 marcadores genéticos Indels.

En general, se observa distribución similar de los alelos por loci, en cada población, con algunas diferencias evidentes en la población de Nativos, donde se observan locus como el Y05, con muy baja frecuencia del alelo 1, en contra de una muy alta frecuencia del alelo 2.

Las frecuencias alélicas de una población en particular, realizada por cada loci analizado, son la base de la valoración estadística para las pruebas de ADN en el área de criminalística y filiación, es decir que posterior a los análisis genéticos, y tras haber coincidencia entre una evidencia y una muestra de referencia (de la víctima o el victimario) o entre un presunto padre y un hijo, los resultados genéticos deben ser valorados estadísticamente por métodos bayesianos, teniendo en cuenta la frecuencia con la que el perfil genético identificado se

---

presenta en la población. Por esto es importante conocer cuál es el grupo o población de referencia que ha de tomarse como población para dicha valoración estadística.

Es por esto, que uno de los mayores aportes investigativos de este trabajo es entregar esta base de datos para los laboratorios de genética forense, en Colombia, que deseen implementar los marcadores genéticos Indels analizados.

La determinación de los estimadores forenses, y de paternidad, permiten el uso de los marcadores genéticos Indels aplicados a los casos de criminalística y filiación en el laboratorio de genética forense.

Los parámetros estadísticos son diferentes para cada situación y pueden clasificarse, según se utilicen, para obtener datos relativos a las técnicas utilizadas o a resultados directamente valorables en cada caso individual, en parámetros a priori y a posteriori, respectivamente. El análisis de los estimadores forenses y de paternidad se obtuvieron mediante el programa PowerStats V12.

### **Probabilidad de coincidencia (PC)**

Es la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar tengan idénticos genotipos en uno o varios sistemas genéticos dados, o de forma semejante, la probabilidad de que un individuo, tomado al azar en una población, presente el mismo perfil genético que el de la muestra analizada.

Se realizó cálculo individual de la PC para cada uno de los marcadores analizados y se encontró un promedio por marcador entre 42% y 48% para los grupos de regiones estudiadas, lo que indica que con un solo marcador genético hay entre 42% y 48% de probabilidad de encontrar dos personas con el mismo genotipo. Finalmente, se calculó la probabilidad de coincidencia acumulada para todos los marcadores, la cual arrojó valores entre  $5,93 \times 10^{-15}$  y  $1,16 \times 10^{-13}$ , lo que señala que es prácticamente improbable que con los 38 marcadores genéticos Indels, se puedan encontrar dos individuos con el mismo genotipo en las poblaciones analizadas.

### **Poder de discriminación (PD)**

Es la probabilidad de que dos individuos no relacionados, y tomados al azar, puedan ser diferenciados genéticamente mediante el análisis de un marcador o conjunto de marcadores. Del mismo modo, se define como la capacidad que tiene un laboratorio para analizar un vestigio y diferenciarlo de otro tomado al azar (Morales et al., 2000).

Se realizó cálculo individual del PD para cada uno de los marcadores analizados y se encontró un promedio por marcador entre 52% y 58% para los grupos de poblaciones analizadas, lo que indica que, con un solo marcador, hay entre un 52% y 58% de probabilidad de diferenciar genéticamente un individuo de otro tomado al azar de la población. El poder de discriminación, acumulado para todos los marcadores, suele arrojar valores superiores a 99,99% en todas las poblaciones, lo que indica que, en conjunto, los 38 marcadores Indels son una excelente herramienta para el análisis de evidencias forenses.

### **Contenido de información polimórfica (PIC)**

Indica la calidad de un marcador respecto al polimorfismo detectado en un marcador genético. Su valor depende del número de alelos y de la distribución de frecuencias (Martínez & Centurión, 2019). Valores superiores de 0,5 se consideran muy informativos;

---

---

valores entre 0,25 y 0,5 medianamente informativos y los valores inferiores a 0,25 poco informativos.

Para todos los grupos de regiones se obtuvo un PIC promedio entre 0,31 y 0,36 por marcador genético, lo que prueba que estos son medianamente informativos. Esta medida está relacionada directamente con grado de polimorfismo de cada marcador, reflejado en la cantidad de alelos presentes. Es claro que al ser estos marcadores bialélicos confirman el resultado obtenido; por lo que, para su uso en estudios de criminalística y filiación, es necesario utilizar hasta tres veces la cantidad de marcadores genéticos, respecto a los que normalmente se emplean con STRs (Carranzana et al., 2011).

### **Probabilidad de exclusión a priori (PE)**

Es la probabilidad de que un sistema genético específico muestre evidencias que conduzcan a la exclusión de un individuo (Boyd, 1954). Es un valor estadístico porcentual en función directa del polimorfismo de un marcador, de modo que cuanto más polimórfico es un sistema y más equilibradas están las funciones de sus alelos, tanto mayor será su probabilidad de exclusión a priori y, por tanto, su eficiencia en la investigación de paternidad.

El análisis de la PE arrojó valores entre 99,69% y 99,95% para las regiones analizadas. Estos valores indican que el sistema de 38 marcadores Indel, puede excluir a individuos falsamente acusados con una probabilidad del 99%.

### **Análisis de casos**

Para realizar el análisis de identificación de restos humanos, a partir del perfil genético, es necesario contar con muestras de referencia para efectuar la comparación o cotejo y encontrar coincidencias. Las muestras de referencia más comunes son las que se toman a uno o varios familiares o, en algunos casos, se pueden recuperar objetos que pertenecían a la persona y que contienen material biológico.

Los familiares biológicos comparten una parte de su ADN. El grado de parentesco determina cuánto material genético tienen en común dos individuos. Padres e hijos comparten la mitad de su ADN; un individuo comparte también, en promedio, un cuarto de su ADN con sus abuelos y nietos. A menos que se utilice el análisis de ADN mitocondrial o el análisis del cromosoma Y, las comparaciones más fiables de ADN se realizan con muestras de los padres e hijos de las personas desaparecidas, puesto que comparten la mitad del ADN de la persona desaparecida (Comité Internacional de la Cruz Roja, 2009).

A continuación, se presentan dos casos en los que se realiza el procedimiento de identificación con muestras de referencia de familiares.

#### **Caso número 1**

Se realizó exhumación del cuerpo de un individuo, inhumado como cuerpo no identificado hace 16 años, en un cementerio cuyas fosas son en tierra. Para determinar la identificación se contó con las muestras de un hijo y la respectiva madre del cuerpo no identificado. En la tabla 5 se describen los métodos realizados a cada muestra para su análisis.



**Tabla 2**

*Procedimientos técnicos realizados a todas las muestras del caso número 1*

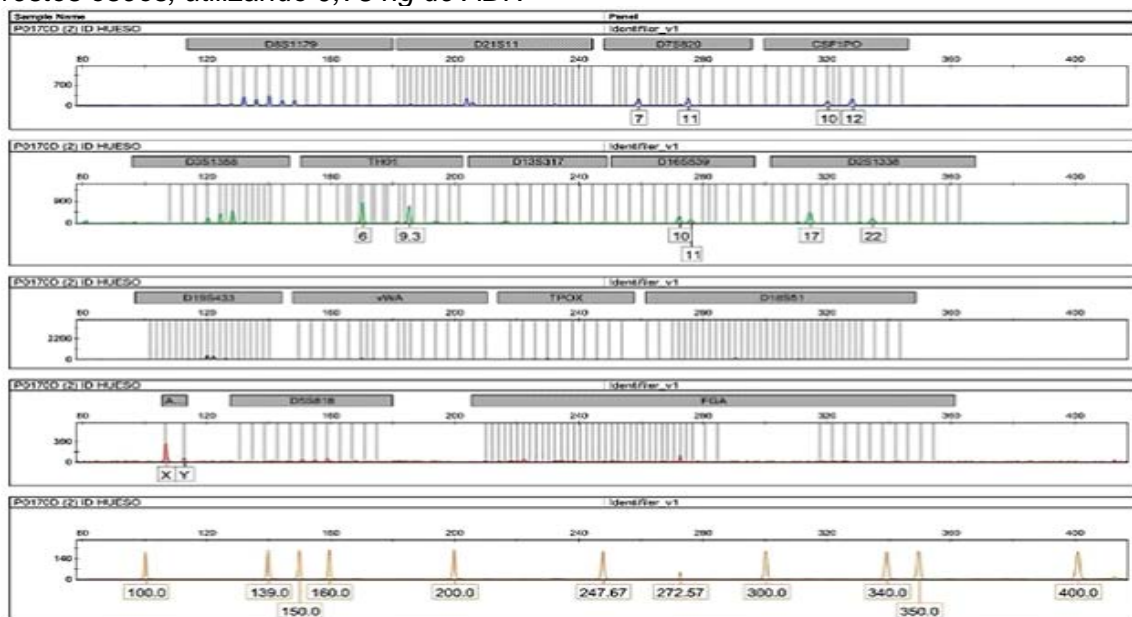
	Toma de muestras	Extracción de ADN	Cuantificación de ADN	Amplificación de ADN	Electroforesis Capilar
<b>NN</b>	Fragmento de fémur	Fenol – Cloroformo	Fluorometría. Qubit fluorometer (Invitrogen)	- Kit Identifiler (Applied Biosystems) - Kit de marcadores genéticos indel: 38 indel-plex*	<b>Analizador Genético ABI 3130 (Applied Biosystems).</b>
<b>Madre</b>	Manchas de sangre en tarjetas FTA Whatman <sup>TM</sup> Gene Cards (GE Healthcare Life Sciences)	Chelex 100 al 20%	N/A	- Kit Identifiler (Applied Biosystems) - Kit de marcadores genéticos indel: 38 indel-plex*	

La tabla 2 evidencia las tres 3 réplicas realizadas a traves del PCR con los marcadores Indel como control de calidad y para determinar consenso en la tipificación de los alelos para cada marcador.

A continuación, se relacionan los electroferogramas obtenidos de las tipificaciones con los marcadores genéticos STRs e Indels.

**Figura 1**

*Electroferograma amplificado con el Kit de STRs Identifiler (Applied Biosystems), a partir de restos óseos, utilizando 0,78 ng de ADN*



La figura 1 evidencia los Electroferograma amplificado con el Kit de STRs Identifiler (Appli Biosystems), a partir de restos óseos, utilizando 0,78 ng de ADN.

Como resultado del análisis con STRs se observa la amplificación de 5 marcadores genéticos, con los cuales se obtuvo un LR (Likelihood Ratio) de parentesco padre/hijo de 862,2011.

Para los marcadores Indel se observa amplificación en los 38 marcadores, con un LR de

parentesco padre/hijo de 553481,7012; este valor significa que es 553481,7012 veces más probable que los restos óseos pertenezcan al individuo no identificado, padre biológico del hijo analizado o la hipótesis alternativa de que no le pertenezcan.

Se observa que para los STRs amplificó sólo el 33% de los marcadores genéticos analizados en el kit multiplex; mientras que para los Indels se observa amplificación del 100% de los marcadores analizados en el kit multiplex.

Resulta evidente que los Indels presentan una eficiencia de amplificación superior a los STRs en este tipo de muestras y también que se logra alcanzar un mayor grado de probabilidad en favor de la hipótesis de identificación. Es importante resaltar que el estudio de Indels no pretende sustituir otras técnicas que normalmente se usan en estos casos, sino una herramienta más que pueda, potencialmente, aportar información para complementar, para que, de forma independiente o en su conjunto, lleve a la resolución exitosa del caso.

En efecto, es posible combinar la información genética obtenida por las dos metodologías, siempre que previamente se haga una evaluación del estado de desequilibrio de ligamiento (DL) entre todos los marcadores utilizados, para efectuar la valoración estadística adecuada de los resultados. Si, por ejemplo, se observa una independencia entre los loci en estudio, sería posible combinar fácilmente esos parámetros, aplicando igualmente la regla del producto, lo que en este caso llevaría a un LR global de 477212531,6045113 apoyando fuertemente la hipótesis inicial de que el individuo no identificado fuera el padre del hijo en cuestión.

## Caso número 2

Se realizó exhumación del cuerpo de un individuo que llevaba en cementerio 13 años y cuyas fosas son en bóveda. Se solicita confirmar identidad de los restos óseos sepultados.

Para determinar la identificación se cuenta con las muestras de un hijo, y su respectiva madre. En la tabla 3 se describen los métodos utilizados en cada muestra para su análisis.

**Tabla 3**

*Procedimientos técnicos realizados a todas las muestras del caso número 2*

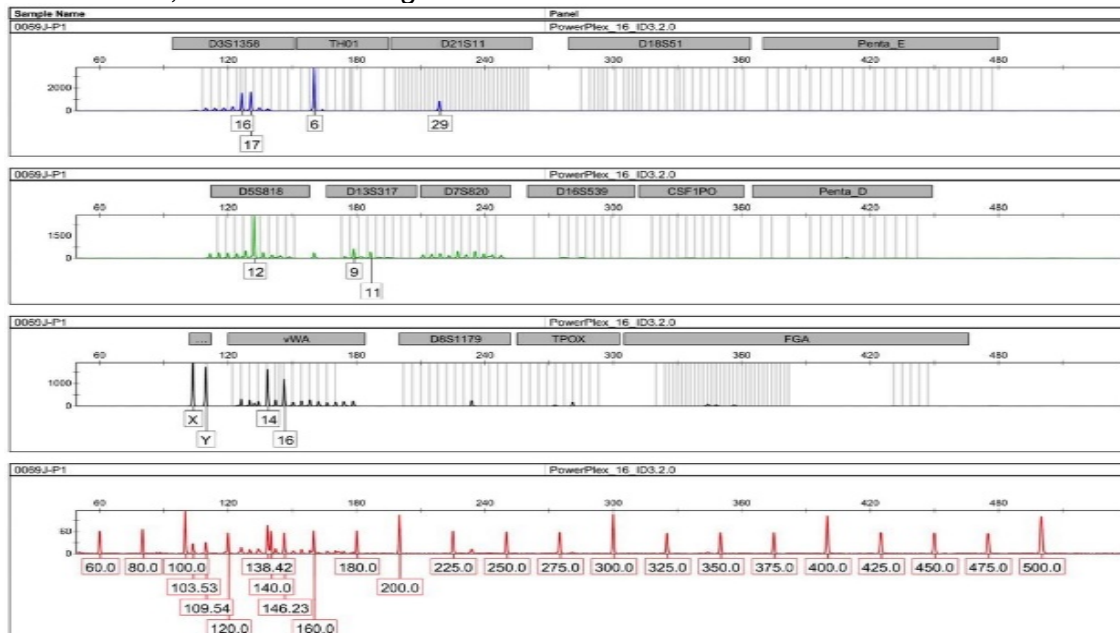
	Toma de muestras	Extracción de ADN	Cuantificación de ADN	Amplificación de ADN	Electroforesis capilar
NN	Fragmento de fémur	Fenol – Cloroformo	Fluorometría. Qubit fluorometer (Invitrogen)	Kit powerPlex16 HS (Promega) Kit de marcadores MiniFiler (Applied Biosystems) Kit de marcadores genéticos indel: 38 indel-plex*	Analizador Genético ABI 3130 (Applied Biosystems).
Madre	Manchas de sangre en tarjetas FTA Whatman <sup>TM</sup> FTA <sup>TM</sup> Gene Cards (GE)	Chelex 100 al 20%	N/A	- Kit PowerPlex16 (Promega) - Kit de marcadores Identifiler (Applied Biosystems)	
Hijo	Healthcare Life Sciences)			- Kit de marcadores genéticos indel: 38 indel-plex*	

La tabla 3 evidencia la realización de tres réplicas de PCR con los marcadores Indel como control de calidad y para determinar consenso en la tipificación de los alelos para cada marcador.

A continuación, se relacionan los electroferogramas obtenidos de las tipificaciones con los marcadores genéticos STRs e Indels.

## Figura 2

*Electroferograma amplificado con el kit de STRs PowerPlex16 HS (Promega), a partir de restos óseos, utilizando 3.12 ng de ADN*



Nota. Electroferograma amplificado con el kit de STRs PowerPlex16 HS (Promega), a partir de restos óseos, utilizando 3.12 ng de ADN.

Como resultado del análisis con STRs, se observa la amplificación de 9 marcadores genéticos, con los cuales se obtuvo un LR de parentesco de padre/hijo 25892588,1793.

Para los marcadores Indels se observa amplificación completa de los 38 marcadores, con un LR de parentesco padre/hijo de 13058346201,2313; este valor significa que es 13058346201,2313 veces más probable que los restos óseos pertenezcan al individuo no identificado, padre biológico del hijo analizado, a que la hipótesis alternativa de que no le pertenezcan.

Se evidencia que para los STRs amplificó sólo un 40% y un 37,5% de los marcadores genéticos analizados en los kits multiplex de PowerPlex 16 HS (Promega) y MiniFiler, respectivamente; mientras que para los Indel se observa amplificación del 100% de los marcadores analizados en el kit multiplex.

Tal como en el caso anterior, los Indels comprueban un eficiente funcionamiento en vestigios biológicos con varios años de inhumación y permiten obtener información complementaria a los STRs aplicados de rutina en el laboratorio de genética forense.

## CONCLUSIONES

Con este trabajo se han creado bases de datos de referencia de diferentes regiones del país para un panel de 38 marcadores Indels de fácil caracterización mediante una técnica de sencilla implementación en todos los laboratorios forenses existentes. Esto aporta un avance científico significativo y propone una base sólida para una efectiva y eficiente aplicación de esta nueva herramienta al servicio del sistema judicial en Colombia, sea de gran ayuda en el

reconocimiento de cuerpos no identificados, en el análisis de evidencias forenses en investigación criminal o en investigaciones de filiación y parentesco.

Los Indels proporcionan una herramienta eficaz en la identificación fehaciente de individuos, por medio de la obtención de perfiles genéticos a partir de muestras que presentan ADN degradado, como suele ocurrir con el análisis de los restos óseos; ya que evidentemente presentan una eficiencia de amplificación superior a los STRs en este tipo de muestras.

Es importante resaltar que el estudio de Indels no pretende sustituir otras técnicas que normalmente se usan en estos casos, como los STRs, sino una herramienta más que pueda, potencialmente, aportar información para que, de forma independiente, o en su conjunto, lleve a la resolución exitosa de un determinado caso.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carrazana, Salas & Ruiz (2011). Nivel de dificultad y poder de discriminación del examen diagnóstico de la asignatura Morfofisiología Humana I. *Educación Médica Superior*, 25(1), 103-114.
- Comité Internacional de la Cruz Roja. (2009). *Personas desaparecidas, análisis forense de ADN e identificación de restos humanos*.
- Delgado de la Flor (2014). Caracterización de nuevos marcadores genéticos Microsatélites e identificación de SNP en el gen de Trichialina en alpacas (*Vicugna pacos*).
- Duarte & Troncoso (2017). El comportamiento espacio-temporal de la población como instrumento de análisis de la estructura urbana: el caso de la Barcelona metropolitana. *Cuadernos geográficos de la Universidad de Granada*, 56(2), 111-133.
- Fiscalía General de la Nación de Colombia. (2014). Unidad Nacional de Fiscalías para la Justicia y la Paz. Recuperado 31 de agosto de 2012, a partir de <https://www.fiscalia.gov.co/colombia/justicia-transicional-2/>
- Fondevila, M., Phillips, C., Naveran, N., Fernandez, L., Cerezo, M., Salas, A., Lareu, M. V. (2008). Case report: Identification of skeletal remains using short-amplicon marker analysis of severely degraded DNA extracted from a decomposed and charred femur. *Forensic Science International: Genetics*, 2(3), 212-218. doi: 10.1016/j.fsigen.2008.02.005
- Ibarra, Freire, Martínez, Fondevila, Burgos, Camacho & Gusmão, L. (2014). Comparison of the genetic background of different Colombian populations using the SNPforIDb 52plex identification panel. *International journal of legal medicine*, 128(1), 19-25. doi:10.1007/s00414-013-0858-z
- Ibarra, Restrepo, Rojas, Castillo, Amorim, Martínez & Gusmão, L. (2014). Evaluating the X chromosome-specific diversity of Colombian populations using insertion/deletion polymorphisms. *PloS one*, 9(1), e87202. doi: 10.1371/journal.pone.0087202
- Los diccionarios y las enciclopedias sobre el Académico. (2015). Los diccionarios y las enciclopedias sobre el Académico. Recuperado 9 de junio de 2014, a partir de <https://es-academic.com/searchall.php?SWord=genetico&from=es&to=xx&did=&stype=>
- Manta, Pereira, Caiafa, Silva, Gusmão & Carvalho (2013). Analysis of genetic ancestry in the admixed Brazilian population from Rio de Janeiro using 46 autosomal ancestry-informative indel markers. *Annals of human biology*, 40(1), 94-98. doi:10.3109/03014460.2012.742138
- Manta, Caiafa, Pereira, Silva, Amorim, Carvalho, & Gusmão, (2012). Indel markers: genetic diversity of 38 polymorphisms in Brazilian populations and application in a paternity investigation with postmortem material. *Forensic science international. Genetics*, 6(5), 658-661. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.12.008

- 
- Martínez, & Centurión Insaurralde, (2019). Contenido de información polimórfica de microsatélites utilizados para análisis moleculares de genotipos porcinos en Paraguay.
- Mestres & Vives (2016). Genética forense: entre la tecnociencia y la imaginación. *Ludus vitalis*, 17(32), 447-450.
- Morales, Escudero, & Reyna, (2000). Nivel de dificultad y poder de discriminación del Examen de Habilidades y Conocimientos Básicos (EXHCOBA). *REDIE: Revista Electrónica de Investigación Educativa*, 2(1), 2.
- Paredes, Galindo, Bernal, Avila, Andrade, Vergara & Carracedo, (2003). Analysis of the CODIS autosomal STR loci in four main Colombian regions. *Forensic science international*, 137(1), 67-73
- Pellegrino & Crespillo (2021). El Genoma Humano y el desarrollo de la Genética Forense. *Rev. Asoc. Méd. Argent*, 134(2), 21-5.
- Pereira, & Gusmão, (2012). Capillary electrophoresis of 38 noncoding biallelic mini-Indels for degraded samples and as complementary tool in paternity testing. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 830, 141-157. doi:10.1007/978-1-61779-461-2\_10
- Weber, David, Heil, Fan, Zhao & Marth (2002). Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. *American journal of human genetics*, 71(4), 854-862. doi:10.1086/342727