



Rev Mex Med Forense, 2021, 6(2):38-58
DOI: <https://doi.org/10.25009/revmedforense.v6i2.2922>
ISSN: 2448-8011

Eficiencia de cinco marcadores X-STR para identificación forense en población mestiza del Occidente de México

Artículo Original

Efficiency of five X-STR markers for forensic identification in a western
Mexican mestizo population

Medina-Mora, Yadira ¹; Javalera-Castro, David ¹; Rivas, Fernando ²; Valle, Yeminia
³; Del Toro-Arreola, Alicia ⁴; Daneri-Navarro, Adrián ⁴; Topete, Antonio ⁴;
Padilla- Gutiérrez, Jorge R. ³; Quintero-Ramos, Antonio ³

Recibido: 17 septiembre 2020; aceptado: 14 octubre 2020; Publicado: 15 Julio 2021

1. Estudiante del Doctorado en Genética Humana, Centro Universitario de Ciencias de la Salud (CUCS), Universidad de Guadalajara (UdG).
2. Investigador Médico, Doctor en Ciencias Médicas, Hospital General de Occidente, Secretaría de Salud Jalisco.
3. Profesor Investigador, Doctor en Genética Humana, Centro Universitario de Ciencias de la Salud (CUCS), Universidad de Guadalajara (UdG).
4. Profesor Investigador, Doctor en Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de Ciencias de la Salud (CUCS), Universidad de Guadalajara (UdG)..

Corresponding author: Antonio Quintero Ramos, antonio.qramos@academicos.udg.mx

Revista Mexicana de Medicina Forense y Ciencias de la Salud.
Editorial Universidad Veracruzana
Periodo julio-diciembre 2021

RESUMEN

Introducción: Las repeticiones cortas en tándem del cromosoma X (X-STR) son utilizadas en la identificación forense y pruebas de parentesco biológico. Actualmente existen varios estudios en los X-STR, sin embargo, el panel incluye varios marcadores del mismo grupo de ligamiento. Al incluir marcadores de diferente grupo de ligamiento la prueba es más eficiente. Objetivo: Establecer un panel de cinco loci X-STR para su aplicación en estudios genéticos forenses en población mestiza del Occidente de México. Metodología: Se tipificaron cinco loci X-STR en 379 muestras de individuos del Occidente de México mediante PCR, geles de poliacrilamida al 7% y tinción con plata. Se estimaron las frecuencias alélicas y haplotípicas, así como los parámetros forenses. Resultados: Los datos combinados mostraron un poder de discriminación de 0.999389 y 0.999995 en hombres y mujeres respectivamente. La combinación de la probabilidad media de exclusión fue 0.9998797 para casos de tríos y 0.990701 para dúos. Discusión: Diversos reportes, que utilizan el sistema Decaplex, obtienen valores de discriminación en mujeres de 99.9999% y en hombres de 99.9998%, resultados muy cercanos al nuestro y con sólo utilizar cinco marcadores. Conclusión: los cinco loci X-STR analizados son altamente informativos para uso en pruebas forenses.

Palabras clave: X-STR, Occidente de México, población mestiza, identificación forense, DXS7424, DXS7132, DXS6789, GATA31E08, GATA172D05.

SUMMARY

Introduction: The short tandem repeats of the X chromosome (X-STR) are useful in forensic identification and kinship testing. There are currently several studies on X-STR; however the panel includes several markers from the same linkage group. By including markers from different linkage group, the test is more efficient. Objective: To establish a panel of five X-STR loci, for application in forensic genetic studies in mestizo population of Western Mexico. Methodology: Five X-STR loci were typed in samples of 379 unrelated individuals from Western Mexico by PCR, 7% polyacrylamide gels and silver staining. Allelic and haplotypic frequencies were estimated, as well as forensic parameters. Results: The combined data showed a discrimination power of 0.999389 and 0.999995 in men and women respectively. The combined mean probability of exclusion was 0.998797 for trio and 0.990701 for duo cases. Discussion: Various reports, which use the Decaplex system, obtain discrimination values in women of 99.9999% and in men of 99.9998%, results very close to ours and with only using five markers. Conclusion: The five X-STR loci analyzed are highly informative for use in forensic issues.

Key words: X-STR, Western Mexican, mestizo population, forensic identification, DXS7424, DXS7132, DXS6789, GATA31E08, GATA172D05.

INTRODUCCIÓN

El ADN (Ácido desoxirribonucleico) contenido en el núcleo de las células está condensado, mediante la interacción de histonas y otras proteínas, en estructuras llamadas cromosomas. En los humanos existen 23 pares de cromosomas, de los cuales 22 son autosómicos y uno sexual (XX para el sexo femenino y XY para el masculino). Se considera que aproximadamente el genoma humano contiene 3.3 mil millones de pares de bases, de las cuales ~2% se les considera ADN codificante, un 80% como ADN no codificante funcional y el resto se desconoce su función u origen (Lichten, 2011; Dolezel, 2012; ENCODE 2012).

Los microsatélites, mejor conocidos como STR (por siglas en inglés *short tandem repeat*), son repeticiones cortas en tándem cuya unidad de repetición es menor a 6 nucleótidos. Aproximadamente el 3% del ADN genómico no codificante corresponde a secuencias STR que generalmente no intervienen en la expresión génica (a pesar de que algunos STR se localizan en regiones intrónicas) y se acumulan en la heterocromatina (Kelkar, 2011).

La identificación forense se basa actualmente en la determinación de polimorfismos situados en regiones repetidas en tándem del genoma humano ya que cada persona tiene un patrón particular de repeticiones, lo que se conoce como huella genética o DNA Fingerprinting (Jeffreys, 1986; Jobling, 2004). Entre un individuo y otro puede variar el número de repeticiones debido a que las mutaciones por inserción o delección (*indels*) son frecuentes (Kelkar, 2011).

Las unidades de repetición más comúnmente utilizados en análisis forenses son de tipo tri y tetranucleótidos. De acuerdo al tipo de arreglo de la secuencia repetida, los STR se clasifican en puro, puro interrumpido, compuesto, interrumpido compuesto y complejo. Los *loci* con una unidad de repetición puro tienen mayor tasa de mutación que las UR compuestas (Chambers, 2009; Sun, 2012).

Los hombres son hemigigotos, es decir, tienen un cromosoma X, mientras que las mujeres tienen dos copias (Ross, 2005). Los STR localizados en el cromosoma X (X-STR) son de gran utilidad en pruebas de parentesco biológico debido a que el cromosoma X paterno se hereda completamente a su descendencia femenina, esto gracias a que durante la meiosis (profase I) los cromosomas homólogos se emparejan e intercambian material genético (crossing over), en las mujeres los dos cromosomas X se recombinan a lo largo de toda su extensión; en el caso de los hombres, la recombinación se limita a las dos regiones pseudoautosómicas (PAR1 y PAR2) equivalentes en el cromosoma Y (Ross, 2005; Hinch, 2014; Guo, 2019).

En este particular modo de herencia, los X-STR tienen mayor poder de exclusión que los STR autosómicos cuando se aplican en la disputa de la paternidad si la descendencia es del sexo femenino, incluso si el padre está ausente. Facilitan el análisis de pedigrís en casos de incesto o en casos en donde familiares biológicos son los principales padres putativos (Gomes, 2007; Chen, 2018).

Complementan de manera eficiente el análisis del ADN mitocondrial ó STR autosómicos en casos familiares (abuelas-nietas) o determinar la exclusión de la paternidad de dos hermanas o medias hermanas, con la alternativa de no tener disponible el ADN de los padres (Zhang, 2016; Prieto, 2016). Para pruebas de maternidad madre/hija, no proporcionan ninguna ventaja, debido que los X-STR se comportan igual que los STR autosómicos (Szibor, 2009).

En la identificación de cadáveres, la prueba presenta mayor fortaleza cuando se realiza a través de la relación madre/hijo en lugar de padre/hijo. Además, se tiene una gran utilidad en casos de abuso sexual para la identificación femenina contra un fondo masculino (Zidkova, 2014; Prieto, 2016).

Se han descrito cuatro grupos de ligamiento en el cromosoma X. Los marcadores dentro de cada grupo se encuentran estrechamente ligados, por lo tanto, en la resolución de casos forenses y de parentesco biológico debe ser considerada la frecuencia haplotípica y no la frecuencia alélica individual de cada marcador. No en todas las poblaciones se han reportado los grupos de ligamiento, además, el grado de desequilibrio de ligamiento (DL) puede variar considerablemente entre las poblaciones. La falta de DL se debe a una historia evolutiva más larga de las poblaciones (Tillmar, 2008; Kling, 2018; Ren, 2019):

- Grupo de ligamiento 1: DXS10148-DXS10135-DXS8378.
- Grupo de ligamiento 2: DXS7132-DXS10079-DXS10074-DXS10075.
- Grupo de ligamiento 3: DXS10103-HPRTB-DXS10101.
- Grupo de ligamiento 4: DXS8377-DXS10146-DXS10134-DXS10147-DXS7423.

El uso de los X-STR en estudios forenses y de parentesco biológico requiere del conocimiento de sus atributos de informatividad en la población donde serán aplicados y de ciertas características como: a) La variación en la unidad de repetición en los X-STR no debe afectar a regiones codificantes o reguladoras de genes de manera que puedan acumular mutaciones sin presión selectiva (neutras), b) Baja tasa de mutación, c) Elevado índice de heterocigosidad, d) Variación en el número de unidades de repetición, lo que permite la presencia de múltiples alelos en un locus, e) Elevado poder de discriminación y probabilidad de exclusión (Buckleton, 2005; Kelkar, 2011).

Para caracterizar la estructura de una población, generalmente y suponiendo no exista endogamia, se utiliza un parámetro del proceso evolutivo F_{ST} (estadístico F); que mide el grado de diferenciación entre las poblaciones al estimar la correlación entre alelos con un promedio de las dos poblaciones comparadas. Inferir la ascendencia de una población favorece la comprensión de su evolución, el mecanismo molecular de enfermedades multifactoriales, y los estudios forenses. En el análisis forense, F_{ST} se utiliza para explicar la relación entre dos perfiles genéticos, los valores mayores de F_{ST} implican mayor coancestría y por lo tanto mayor probabilidad de que ambos perfiles sean similares, disminuyendo el valor de la razón de verosimilitud (Wright, 1969; Wier, 2005).

En México se distinguen dos poblaciones, los mestizos que corresponde aproximadamente al 90% de población; y los grupos étnicos, caracterizados por su lengua, vestimenta y costumbres (Guardado, 2008). La compleja composición genética de la población mexicana se atribuye a las condiciones demográficas e históricas (contribuciones europeas y africanas). Existe heterogeneidad genética entre y dentro de las diferentes regiones del país, por esta razón la distribución alélica cambia de acuerdo a la región geográfica analizada (Lisker, 1996; Gorodezky, 2001; Silva, 2009).

A la fecha se han reportado tres estudios poblacionales con marcadores X-STR en México (Valle, 2008; Cortés, 2017; Mariscal, 2018); sin embargo, por la variabilidad genética existente entre los individuos de las distintas regiones del país, se reportaron diferencias intrapoblacionales significativas entre las poblaciones mexicanas analizadas, lo que sugiere la creación de bases de datos locales para uso de los X-STR, como herramienta para resolver casos forenses o de parentesco biológico. Además de que los estudios previos (Cortés, 2017; Mariscal, 2018) se apoyan en kits comerciales que incluyen marcadores del mismo grupo de ligamiento, lo que dificulta su análisis forense y pruebas de parentesco biológico.

El objetivo del presente trabajo es implementar un panel que incluya marcadores ubicados fuera de los grupos de ligamiento, para su aplicación en pruebas forenses y de parentesco biológico, en población del Occidente de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se capturaron un total de 379 individuos mestizos no relacionados (131 mujeres y 248 hombres) mayores de 18 años, con abuelos y padres de ascendencia mexicana, residentes en el Occidente de México y que dieron su consentimiento informado por escrito. A todos los participantes se les tomó una muestra de 5 ml de sangre venosa o en su caso se les realizó un raspado de mucosa bucal con hisopo. El protocolo fue sometido y aprobado por el comité de Ética, Investigación y Bioseguridad del Centro Universitarios de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara (número de aprobación CI-0317), siguiendo los estándares de la Declaración de Helsinki.

Extracción de ADN genómico

Para las muestras de sangre se utilizó la técnica de precipitación con sales (Miller modificada; Miller, 1988) y en el caso de muestras procedentes de mucosa bucal, la extracción de ADN se realizó mediante solución con Chelex (Sweet, 1996). Posterior a la extracción del ADN, se utilizó el equipo NanoDrop modelo 2000, con el objeto de conocer la pureza, concentración y presencia de proteínas en el ADN extraído.

Tipificación de X-STRs mediante PCR

La secuencia de iniciadores y nomenclatura referente a la asignación de alelos de los cinco loci X-STR estudiados (DXS7424, DXS7132, DXS6789, GATA31E08 y GATA172D05) fue acorde a la base de datos chrx-str.org 2.0 disponible en línea (Tabla 1).

Marcador	Secuencia del iniciador (5' a 3')	Estructura del X-STR	Longitud del fragmento amplificado en pares de bases	Rango de alelos
DXS7132	AGCCCATTTTCATAATAAATC	TCTA	120-144	11-17
	AGTCAACGTTCTCCAGAGA			
DXS6789	GTTGGTACTTAATAAACCCCTCTTT	(TATG) ₈₋₁₀ (TATC) ₆	154-198	14-25
	AAGAAGTTATTTGATGTCCTATTGT	(TATC) (TATG) ₉₋₁₁ (TATC) ₇₋₁₃		
DXS7424	CTGCTTGAGTCCAGGAAT	TAA	147-180	9-20
	GAACACGCACATTTGAGA			
GATA172D05	TAGTGGTGATGGTTGCAC	TAGA	108-136	6-13
	ATAATTGAAAGCCCGGA			
GATA31E08	ACATCAGTACAAAATCTTGTTTATC	AGAT	152-180	6-13
	GTATGCTCACTTTTATGTGTGTA			

Tabla 1. Secuencia de los iniciadores para cada marcador (chrX-str.org/, 2019).

La amplificación se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa con primers secuencia específica (PCR-SSP, *polymerase chain reaction-sequence specific primer*) y en un volumen de reacción final de 10 μ L. Cada reacción fue realizada con 10 ng de ADN genómico, 1X de buffer para PCR, 1.5 mM de $MgCl_2$, 0.2 mM de una mezcla de deoxinucleósido trifosfato (dNTP), 0.8 pMol de cada iniciador y 0.02 U de Taq ADN polimerasa para los marcadores DXS7132, DXS6789 y GATA31E08. Las condiciones de PCR tuvieron variaciones, en el caso de los marcadores GATA172D05 y DXS7424 la concentración de cada iniciador fue 0.4 y 0.6 pMol respectivamente con 2 mM de $MgCl_2$ para cada marcador. El ciclo de temperaturas para DXS6789, DXS7132, DXS7424 y GATA31E08 consistió en una temperatura inicial de 94°C por 5min, seguido por 30 ciclos de 94°C por 30s, 53°C por 30s y 72°C por 30s, extensión final de 72°C por 10min. En GATA172D05 la temperatura de alineamiento fue de 52°C por 30s, el resto del programa fue idéntico. La separación y detección de los productos de PCR se realizó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 7% y tinción con nitrato de plata. Las escaleras alélicas fueron creadas utilizando la combinación de los productos de PCR de diferentes muestras para cada *locus*.

Control de calidad. La tipificación se realizó mediante la comparación con un ADN conocido, como control interno, el cuál fue secuenciado para establecer el número de repeticiones presentes para cada marcador.

Análisis estadístico. Para cada *loci* X-STR, se estimó la frecuencia alélica y la diversidad genética combinando la base de datos en hombres y mujeres, con el software GDA V1.1 y los estadísticos con eficiencia forense fueron calculados en la base de datos ChrX-STR.org 2.0 disponible en línea (<http://www.chrx-str.org>). El equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) y DL se estimaron en mujeres, mediante el programa GDA V1.1. El umbral estadísticamente significativo fue menor a 0.05. La frecuencia haplotípica, en los hombres, fue mediante conteo directo. Las distancias genéticas (F_{ST}) fueron calculadas por separado para cada marcador en el software ARLEQUIN v3.1 de acuerdo con la fórmula *Reynolds, J., Weir, B.S., and Cockerham, C.C. 1984.*

RESULTADOS

Un total de 379 individuos no relacionados (131 mujeres y 248 hombres) fueron tipificados en el estudio. Se observó en total 42 alelos diferentes (6-24) entre los distintos marcadores X-STR, DXS7424, DXS6789, GATA172D05, GATA31E08 y DXS7132, los alelos que se presentaron con mayor frecuencia fueron el 14 (0.2731), 20 (0.4050), 11 (0.3157), 12 (0.3512) y 14 (0.3479), respectivamente. En los cinco *loci* la frecuencia alélica (Tabla 2), no mostró diferencias significativas entre hombres y mujeres.

Medina, Y.; Javalera, D.; Rivas, F.; Valle, Y.; Del Toro, A.; Danej, A.; Topete, A.; Padilla, J.R.; Quintero, A. (2021). Eficiencia de cinco marcadores X-STR para identificación forense en población mestiza del Occidente de México. *Rev Mex Med Forense*, 6(2):38-58. DOI: <https://doi.org/10.25009/revmedforense.v6i2.2922>

Alelo	DXS7424 (222M y 116F) n = 454		DXS6789 (229M y 125F) n = 479		GATA172D05 (189M y 113F) n = 415		GATA31E08 (242M y 121F) n = 484		DXS7132 (230M y 125F) n = 480	
	Frec	Ee	Frec	Ee	Frec	Ee	Frec	Ee	Frec	Ee
6					0.1133	±0.0156				
7					0.0145	±0.0059	0.0186	±0.0060		
8					0.1205	±0.0160	0.0413	±0.0089		
9					0.0482	±0.0105	0.1178	±0.0144		
10					0.2506	±0.0213	0.0620	±0.0107		
11	0.0132	±0.0054			0.3157	±0.0228	0.2025	±0.0179	0.0063	±0.0036
12	0.1189	±0.0152			0.1205	±0.0160	0.3512	±0.0213	0.1229	±0.0150
13	0.2291	±0.0197			0.0169	±0.0063	0.1694	±0.0167	0.2646	±0.0201
14	0.2731	±0.0209	0.0146	±0.0055			0.0289	±0.0075	0.3479	±0.0217
15	0.2004	±0.0188	0.0251	±0.0071			0.0083	±0.0040	0.1896	±0.0179
16	0.1520	±0.0168	0.0605	±0.0109					0.0563	±0.0105
17	0.0132	±0.0054	0.0104	±0.0046					0.0125	±0.0051
18			0.0042	±0.0029						
19			0.0376	±0.0087						
20			0.4050	±0.0224						
21			0.2965	±0.0209						
22			0.1273	±0.0152						
23			0.0125	±0.0051						
24			0.0063	0.0036						

Tabla 2. Frecuencia alélica de cinco *loci* X-STR en población mestiza del Occidente de México. n = número de cromosomas, Frec = frecuencia alélica, Ee = error estándar, F = femenino, M = masculino.

La distribución de la frecuencia genotípica no reveló desviación significativa del EHW ($p > 0.05$). El valor de la probabilidad (p) y D por pares de sitios para estimar el DL en las mujeres se puede observar en la figura 1. Las diferencias en los haplotipos observados contra los esperados no son significativas ($p > 0.05$) por lo que los sitios analizados no se encuentran en DL.^o

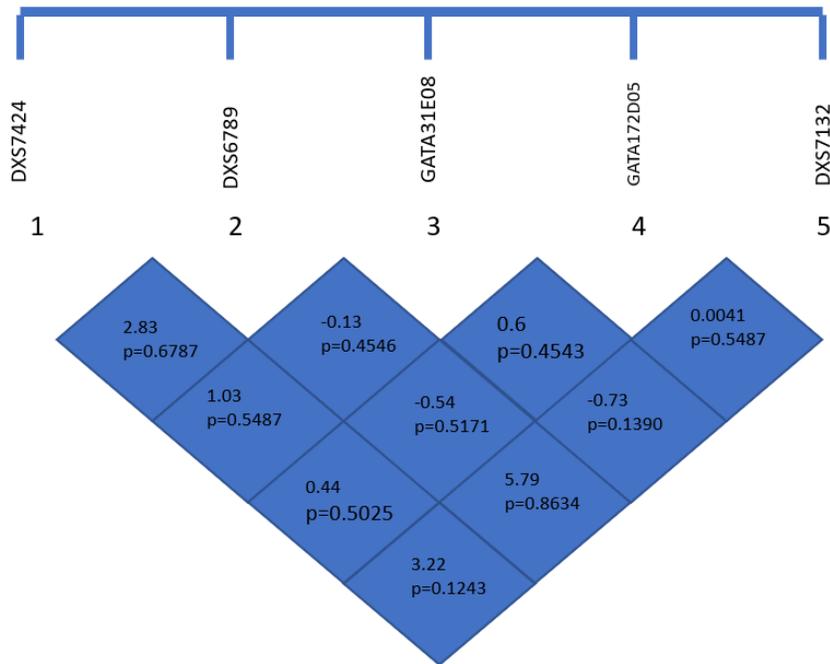


Figura 1. Estatus del desequilibrio de ligamiento por pares de sitios

Por conteo directo, en hombres, se identificaron 184 haplotipos, de los cuales 172 fueron únicos. La diversidad genética varió entre 0.7240 y 0.8014 en todos los marcadores, con un promedio para los cinco *loci* de 77.26%. La capacidad discriminadora fue de 93.4782% y la diversidad haplotípica de 99.4211%. En la tabla 3 se observa la frecuencia absoluta de los haplotipos más frecuentes.

Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5	Frecuencia Absoluta
DXS7132	DXS7424	DXS6789	GATA172D05	GATA31E08	
12	14	20	12	13	2
13	14	21	11	12	2
14	13	20	8	11	2
14	13	20	11	11	2
14	14	20	10	13	2
14	15	20	11	12	2

Tabla 3. Haplotipos frecuentes en hombres

La estimación de los atributos de informatividad a partir de las frecuencias combinadas de hombres y mujeres de cada uno de los marcadores X-STR se observa en la tabla 4. El marcador con menor diversidad fue DXS6789 (PIC=0.6852, con 11 alelos). El marcador más informativo en pruebas de parentesco biológico de los 5 X-STRs estudiados, es el GATA172D05 con una probabilidad de exclusión de 0.7645 en trío (posible padre, hija y madre) y 0.6381 en dúo (posible padre e hija). En la identificación de hombres, el marcador DXS7424 es el más informativo, con un poder de discriminación de 0.7952. En la identificación de mujeres, el marcador GATA172D05 es el más informativo de los 5 X-STRs estudiados (PDm=0.9287). El marcador menos informativo en las pruebas de parentesco biológico y forense es el marcador DXS6789. Con la combinación de la informatividad de los cinco X-STR se obtienen valores altos en el poder de discriminación en mujeres 99.9995%.

Parámetro forense/Marcador	DXS7424	DXS6789	GATA172D05	GATA31E08	DXS7132
PIC	0.7639	0.6852	0.7645	0.7585	0.7154
H (esp)	0.7952	0.7256	0.7929	0.7863	0.7545
H (obs)	0.7931	0.7280	0.7876	0.8595	0.7600
PD_m	0.9268	0.8843	0.9287	0.9266	0.9006
PE	0.5901	0.4690	0.5860	0.5738	0.5176
PD_h	0.7952	0.7256	0.7929	0.7863	0.7545
MECI	0.7639	0.6852	0.7645	0.7585	0.7154
MECII	0.6360	0.5461	0.6381	0.6310	0.5786
PD_m acum	0.999995				
PE acum	0.981472				
PD_h acum	0.999389				
MECI acum	0.998797				
MECII acum	0.990701				

Tabla 4. Parámetros forenses de cinco *loci* X-STR en población mestiza del Occidente de México. PIC = contenido de información polimórfica, H (esp) = índice de heterocigosidad esperada, H (obs) = índice de heterocigosidad observada, PD_m = poder de discriminación en mujeres, PE = probabilidad de exclusión, PD_h = poder de discriminación en hombres, MECI = probabilidad de exclusión en tríos (posible padre/hija/madre), MECII = probabilidad de exclusión en dúos (padre putativo/hija), acum = combinación de los cinco *loci*.

La distancia genética se estimó con el índice de fijación (F_{ST}) mediante la frecuencia alélica. La población de estudio se comparó con datos disponibles de otras poblaciones. La distancia genética y su significancia por pares para cada marcador X-STR se observa en tabla 5. La comparación de las distancias F_{ST} mostró una distancia genética significativa en los cinco *loci* ($p < 0.05$), que va de 0.00376 a 0.12230, y de acuerdo con la ubicación geográfica de las poblaciones. En el marcador DXS7132 se observa una relativa homogeneidad entre las poblaciones, con excepción de la población Argentina.

Medina, Y.; Javalera, D.; Rivas, F.; Valle, Y.; Del Toro, A.; Danej, A.; Topete, A.; Padilla, J.R.; Quintero, A. (2021). Eficiencia de cinco marcadores X-STR para identificación forense en población mestiza del Occidente de México. *Rev Mex Med Forense*, 6(2):38-58. DOI: <https://doi.org/10.25009/revmedforense.v6i2.2922>

Población/Marcador	DXS7424	DXS6789	GATA172D05	GATA31E08	DXS7132
Hispanoamericanos (Diegoli et al., 2014)	F _{ST} = 0.02750 * p = 0.00000	F _{ST} = 0.00018 p = 0.2818	F _{ST} = 0.00008 p = 0.3818	F _{ST} =0.00215 *p = 0.0454	F _{ST} = 0.00026 p = 0.3272
Norte de Italia (Robino et al., 2006)	F _{ST} = 0.05645 *p= 0.00000	F _{ST} =0.00202 p=0.13636	F _{ST} = 0.02573 *p= 0.0000	-	F _{ST} = 0.00079 p= 0.23636
Andalucía (Prieto et al., 2016)	-	F _{ST} =0.00574 *p=0.0454	F _{ST} = 0.00907 *p= 0.0000	F _{ST} = 0.04378 *p= 0.0000	F _{ST} = 0 p= 0.3454
Argentina (Bobillo et al., 2011)	-	F _{ST} 0.00164 p=0.1272	F _{ST} =0.000 p=0.4181	F _{ST} =0.12230 *p = 0.0000	F _{ST} = 0.00523 *p = 0.0272
Afroamericanos (Diegoli et al., 2014)	F _{ST} =0.00376 *p=0.0000	F _{ST} =0.06594 *p=0.0000	F _{ST} =0.08339 *p=0.0000	F _{ST} =0.02412 *p=0.0000	F _{ST} =0 p=0.4000
Brasil (Martins et al., 2017)	-	F _{ST} =0.01248 *p=0.0000	F _{ST} =0.01463 *p=0.0000	F _{ST} =0.00635 *p=0.0000	F _{ST} =0.00196 p=0.0636
Norte de Belarús (Rebala et al., 2015)	F _{ST} =0.02925 *P=0.0000	-	F _{ST} =0.00456 P=0.0818	-	F _{ST} =0.00373 P=0.0545

Tabla 5. Distancias genéticas en la comparación inter grupo con la población mestiza del Occidente de México. *Significancia estadística

DISCUSIÓN

El desequilibrio de ligamiento (DL) es la dependencia alélica entre alelos en diferentes *loci* que puede ser el resultado de la proximidad física entre los *loci* o puede deberse a una subestructura de la población, apareamientos no aleatorios o migración (Tillmar, 2017). Los marcadores DXS7424, DXS6789, GATA172D05, GATA31E08 y DXS7132 no se encuentran en DL por pares de sitios ($p > 0.05$). El DL es más frecuente cuando la distancia física es de 10-20kb entre marcadores; de acuerdo a las distancias físicas reportadas en la base de datos ChrX-STR.org, los marcadores estudiados se encuentran a una distancia mayor de 5169 kb entre cada marcador, favoreciendo la independencia de los alelos (Slaktin, 2008). La ausencia de DL entre los cinco marcadores estudiados en este trabajo, coincide con la base de datos ChrX-STR.org (no pertenecen al mismo grupo de ligamiento), por lo que su poder estadístico en pruebas de parentesco biológico y forense aumenta, pues se puede aplicar la regla del producto.

La diversidad haplotípica de los cinco marcadores X-STR es casi igual a la obtenida en 9 marcadores Y-STR (Padilla, 2008), sin embargo, en casos de disputa de paternidad cuando la descendencia es masculina, los marcadores X-STR no ofrecen información, debido al patrón de herencia. Pero en la identificación de esqueletos o cadáveres, es más confiable la prueba madre/hijo que a través de la relación padre/hijo. (Szibor, 2009).

En el ámbito forense, los marcadores X-STR tienen particular ventaja en casos de identificación femenina, especialmente cuando la muestra se contamina con material genético masculino (Gomes, 2007). La combinación de los 5 marcadores X-STR estudiados, resulta ser eficiente con un poder de discriminación acumulado más alto en mujeres 99.9995% que en hombres 99.9389%. Diversos reportes, que utilizan el sistema comercial Decaplex, obtienen valores de discriminación en mujeres de 99.9999% y en hombres de 99.9998% (Bobillo, 2011; Gusmão, 2012; Zidkova, 2014; Martins, 2017), como se observa, son resultados muy cercanos al que se reporta en el presente trabajo, y en nuestro caso sólo utilizando cinco marcadores en comparación a 10 marcadores en Decaplex. Otra desventaja del uso de kits comerciales X-STR, es que tienen marcadores agrupados, la asociación entre los alelos en los marcadores dentro de cada grupo de ligamiento es fuerte y cada grupo de marcadores se tratará como un haplotipo, lo que dificulta su análisis (Kling, 2018; Ren, 2019).

Por la particularidad en su modo de transmisión y a su localización en regiones no codificantes, el análisis de marcadores X-STR se utiliza en casos de paternidad cuando el posible padre está ausente con la participación de familiares biológicos y en menor proporción pruebas de maternidad (Gršković, 2013).

Los padres transmiten a sus descendientes femeninos el cromosoma X sin recombinación (excepto en las regiones pseudoautosómicas), por lo tanto, en pruebas de paternidad donde está involucrada una hija, los *loci* X-STR son más eficientes que los marcadores autosómicos (Szibor, 2009; Chen, 2018; Guo, 2019).

La probabilidad de exclusión, para la resolución de pruebas de paternidad con descendencia femenina, de los cinco marcadores combinados en tríos y dúos es de 99.8797 y 99.0701%, por lo que su aplicación directa se ve limitada. Sin embargo, al incluir los 5 marcadores X-STR previamente reportados por Valle et al., 2008 en población del Occidente de México, como lo hacen Teobal et al., 2020 en población del Estado de Veracruz, se alcanza una probabilidad de exclusión de 99.99994% en tríos y 99.9902 para dúos. La propuesta de un nuevo panel con estos 10 X-STR ofrece la información necesaria para la resolución de pruebas de paternidad cuando están implicados el posible padre, la hija y la madre.

Otra aplicación y muy poco estudiada de los X-STR en población mexicana, es la inferencia sobre la historia evolutiva; sin embargo, su precisión se ve limitada por la falta de comprensión del proceso de mutación debido a que la población mexicana se caracteriza por su alto nivel de mezcla genética, como consecuencia de la colonización y multiétnicas (Gorodezky, 2001).

Cuatro de los cinco *loci* mostraron valores de F_{ST} relativamente bajos, pero estadísticamente significativos ($p < 0.05$), al comparar nuestra población con los Afroamericanos. Esta disminuida heterocigosidad se puede atribuir al aumento de las proporciones de ascendencia Africana en la población mestiza con los marcadores del cromosoma X, fenómeno generalmente observado en América Latina por su historia de colonización, donde la continua inmigración al continente americano de hombres africanos, tuvo lugar (Wang, 2008).

Curiosamente, tres *loci* mostraron diferencias significativas de F_{ST} con la población de Andalucía. A saber, mediante otros sistemas genéticos e históricos, que el componente europeo proviene principalmente de España (Castilla, Andalucía y Extremadura), se esperarían valores no significativos, sin embargo, la extensión de la ascendencia europea aumenta en el norte de México. Además, se ha observado que las poblaciones mestizas con baja densidad de población nativa pueden tener un fondo autosómico predominantemente europeo y al mismo tiempo una ascendencia nativa predominante en los marcadores del X o mtDNA (Gorodezky, 2001; Wang, 2008).

La población del Occidente de México guarda una relación relativamente más estrecha con los hispano-estadounidense. Las diferencias significativas solo están presentes en dos *loci* y los valores de F_{ST} son menores a 0.0275. Esta relación es de esperarse por la historia que comparten y los constantes eventos migratorios de la población mexicana al norte del continente.

En las frecuencias alélicas del marcador DXS7132 no existen diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones, aquí comparadas, a excepción de la población de Argentina; esta única diferencia se debe al mestizaje que presenta la población, dónde se ha reportado un alto nivel de variabilidad genética en las poblaciones urbanas e indígenas (Di Santo, 2019).

La falta de diferencias significativas interpoblacional con respecto a las frecuencias alélicas de DXS7132 (excepto contra los datos de Argentina) se explica por coincidencias de deriva aleatoria entre poblaciones y permite aplicar la misma base de datos en casi cualquier región geográfica en pruebas forenses y de parentesco biológico.

Conclusión

De acuerdo al valor obtenido en los atributos de informatividad, los cinco marcadores X-STR pueden ser utilizados como un panel para complementar de manera eficiente el análisis de STR autosómicos y marcadores mitocondriales en pruebas complejas de parentesco biológico en población del Occidente de México.

Con el panel de los cinco *loci* estudiados se obtuvo una informatividad muy cercana al reportado por Decaplex para la resolución de casos forenses que implica la identificación femenina. Por lo que el nivel de información que aporta un panel de marcadores en la resolución de casos forenses no necesariamente depende del número de *loci*, está más en función de su informatividad y variabilidad en la frecuencia alélica de cada *locus* (heterocigosidad).

Al demostrar la nula diferenciación en las frecuencias alélicas del marcador DXS7132 entre las poblaciones Afroamericanos, Occidente de México, Hispanoamericanos, Norte del Italia, Andalucía, Brasil y Norte de Belarús, se puede utilizar la misma base de datos para la resolución de pruebas forenses y de parentesco biológico en las poblaciones antes mencionadas.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa Pro-SNI de la Universidad de Guadalajara por el apoyo otorgado al Dr. Antonio Quintero Ramos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo logístico y administrativo de la investigación y la asignación de la beca de Doctorado otorgada a la estudiante de posgrado Yadira Medina Mora.

REFERENCIAS

1. Bobillo, C., Sala, A., Gusmão, L., & Corach, D. (2011). Genetic analysis of 10 X-STRs in Argentinian population. *Forensic Science International. Genetics*, 5(1), e14–16. <http://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.11.005>
2. Buckleton, J. S., Bright, J.-A., & Taylor, D. (2005). *Forensic DNA Evidence Interpretation*, Second Edition. CRC Press.
3. Chambers, G. K., & MacAvoy, E. S. (2000). Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 126(4), 455–476.
4. Chen L, Guo Y, Xiao C, Wu W, Lan Q, Fang Y, Chen J, Zhu B. Genetic polymorphisms and forensic efficiency of 19 X-chromosomal STR loci for Xinjiang Mongolian population. (2018). *PeerJ*, 3;6:e5117. doi: 10.7717/peerj.5117.
5. Cortés-Trujillo, I., Ramos-González, B., Salas-Salas, O., Zuñiga-Chiquette, F., Zetina Hernández, A., Martínez-Cortés, G., Rangel-Villalobos, H. (2017). Forensic efficiency parameters of the Investigator Argus X-12 kit in women from two Mestizo and seven Amerindian populations from Mexico. *Legal Medicine (Tokyo, Japan)*, 26, 62–64. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.03.006>
6. Diegoli, T. M., Linacre, A., & Coble, M. D. (2014). Population genetic data for 15 X chromosomal short tandem repeat markers in three U.S. populations. *Forensic Science International. Genetics*, 8(1), 64–67. <http://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.07.008>
7. Di Santo Meztler G. Paula, Glesmann Laura A., Esteban M. Esther, Del Palacio Santiago, Méndez Marta G., Citanesi Cecilia I. (2019). Comparative Study of 10 X-STR Markers in Populations of Northeast Argentina. *Human Biology* 91(1): 9–20.
8. Doležel, J., Vrána, J., Safář, J., Bartoš, J., Kubaláková, M., & Simková, H. (2012). Chromosomes in the flow to simplify genome analysis. *Functional & Integrative Genomics*, 12(3), 397–416. <http://doi.org/10.1007/s10142-012-0293-0>
9. ENCODE Project Consortium. (2012). An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*, 489(7414), 57–74. <http://doi.org/10.1038/nature11247>

10. Gomes, I., Prinz, M., Pereira, R., Meyers, C., Mikulasovich, R. S., Amorim, A., Gusmão, L. (2007). Genetic analysis of three US population groups using an X-chromosomal STR decaplex. *International Journal of Legal Medicine*, 121(3), 198–203. <http://doi.org/10.1007/s00414-006-0146-2>
11. Gorodezky, C., Alaez, C., Vázquez-García, M. N., de la Rosa, G., Infante, E., Balladares, S., Muñoz, L. (2001). The genetic structure of Mexican Mestizos of different locations: tracking back their origins through MHC genes, blood group systems, and microsatellites. *Human Immunology*, 62(9), 979–991.
12. Guardado Estrada M, Quiapo G, Meraz Rios M, Berumen Campo J (2008). Diversidad genética en la población mexicana: Utilización de marcadores de ADN. *Revista médica del Hospital General de México*, SS, 71:162-74.
13. Gusmão, L., Alves, C., Gomes, I., & Sánchez-Diz, P. (2012). Capillary electrophoresis of an X-chromosome STR decaplex for kinship deficiency cases. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 830, 57–71. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-461-2_5
14. Guo J, Ji J, He G, Ren Z, Zhang H, Wang Q, Yang M, Nabijiang Y, Zhang Z, Zhang J, Huang J, Wang CC. (2019) Genetic structure and forensic characterisation of 19 X-chromosomal STR loci in Guizhou Sui population. *Ann Hum Biol*, 46(3):246-253. doi: 10.1080/03014460.2019.1623911.
15. Gršković, B., Zidkova, A., Stenzl, V., Popović, M., Primorac, D., & Mršić, G. (2013). Analysis of 8 X-chromosomal markers in the population of central Croatia. *Croatian Medical Journal*, 54(3), 238–247.
16. Hinch, A. G., Altemose, N., Noor, N., Donnelly, P., & Myers, S. R. (2014). Recombination in the Human Pseudoautosomal Region PAR1. *PLoS Genetics*, 10(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004503>
17. Jeffreys, A., Wilson, V. E. A., Thein, S. L., Weatherall, D. J., & Ponder, B. A. J. (1986). DNA «fingerprints» and segregation analysis of multiple markers in human pedigrees. *American journal of human genetics*, 39(1), 11-24.
18. Jobling, M. A., & Gill, P. (2004). Encoded evidence: DNA in forensic analysis. *Nature Reviews. Genetics*, 5(10), 739–751. <http://doi.org/10.1038/nrg1455>
19. Kelkar, Y. D., Eckert, K. A., Chiaromonte, F., & Makova, K. D. (2011). A matter of life or death: how microsatellites emerge in and vanish from the human genome. *Genome Research*, 21(12), 2038–2048. <http://doi.org/10.1101/gr.122937.111>
20. Kling, D. (2018). Curiosities of X chromosomal markers and haplotypes. *International Journal of Legal Medicine*, 132(2), 361-371. <https://doi.org/10.1007/s00414-017-1612-8>
21. Lichten, M., & de Massy, B. (2011). The impressionistic landscape of meiotic recombination. *Cell*, 147(2), 267–270. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.038>
22. Lisker, R., Ramírez, E., & Babinsky, V. (1996). Genetic structure of autochthonous populations of Meso-America: Mexico. *Human Biology*, 68(3), 395–404.
23. Mariscal Ramos, C., Martínez-Cortes, G., Ramos-González, B., & Rangel-Villalobos, H. (2018). Forensic parameters of the X-STR Decaplex system in Mexican populations. *Legal Medicine (Tokyo, Japan)*, 31, 38-41.

<https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.12.013>

24. Martins, J. A., Martins, D. P., Oliveira-Brancati, C. I. F., Martinez, J., Cicarelli, R. M. B., & Souza, D. R. S. (2017). Genetic characterization of an X-STR decaplex system in the State of Mato Grosso, Brazil: distribution, forensic efficiency and population structure. *International Journal of Legal Medicine*, 131(6), 1523-1530. <https://doi.org/10.1007/s00414-017-1578-6>
25. Miller SA, D. and Dykes D, Polesky HF.(1988) A Simple salting out procedure for extracting DNA from Human Nucleated Cells. *Nucleic Acids Res.* Jan 1;16:12-5.
26. Padilla-Gutiérrez, J. R., Valle, Y., Quintero-Ramos, A., Hernández, G., Rodarte, K., Ortiz, R., Rivas, F. (2008). Population data and mutation rate of nine Y-STRs in a mestizo Mexican population from Guadalajara, Jalisco, México. *Legal Medicine (Tokyo, Japan)*, 10(6), 319-320. <http://doi.org/10.1016/j.legalmed.2008.03.004>
27. Prieto-Fernández, E., Núñez, C., Baeta, M., Jiménez-Moreno, S., Martínez-Jarreta, B., & de Pancorbo, M. M. (2016). Forensic Spanish allele and haplotype database for a 17 X-STR panel. *Forensic Science International. Genetics*, 24, 120-123. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.06.016>
28. Rębała, K., Kotova, S. A., Rybakova, V. I., Zabauskaya, T. V., Shyla, A. A., Spivak, A. A. Szczerkowska, Z. (2015). Variation of X-chromosomal microsatellites in Belarus within the context of their genetic diversity in Europe. *Forensic Science International. Genetics*, 16, 105-111. <http://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.12.011>
29. Ren Z, Guo J, He G, Zhang H, Zou X, Zhang H, Wang Q, Ji J, Yang M, Zhang J, Zhang Z, Nabijiang Y, Huang J, Wang CC. (2019). Forensic genetic polymorphisms and population structure of the Guizhou Bouyei people based on 19 X-STR loci. *Ann Hum Biol*, 46(7-8):574-580. doi: 10.1080/03014460.2019.1697362.
30. Robino, C., Giolitti, A., Gino, S., & Torre, C. (2006). Development of two multiplex PCR systems for the analysis of 12 X-chromosomal STR loci in a northwestern Italian population sample. *International Journal of Legal Medicine*, 120(5), 315-318. <http://doi.org/10.1007/s00414-006-0115-9>
31. Ross, M. T., Grafham, D. V., Coffey, A. J., Scherer, S., McLay, K., Muzny, D., Bentley, D. R. (2005). The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*, 434(7031), 325-337. <https://doi.org/10.1038/nature03440>
32. Silva-Zolezzi, I., Hidalgo-Miranda, A., Estrada-Gil, J., Fernandez-Lopez, J. C., Uribe-Figueroa, L., Contreras, A., Jimenez-Sanchez, G. (2009). Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(21), 8611-8616. <http://doi.org/10.1073/pnas.0903045106>
33. Slatkin, M. (2008). Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nature Reviews. Genetics*, 9(6), 477-485. <https://doi.org/10.1038/nrg2361>
34. Sun, J. X., Helgason, A., Masson, G., Ebenesersdóttir, S. S., Li, H., Mallick, S., Stefansson, K. (2012). A direct characterization of human mutation based on microsatellites. *Nature Genetics*, 44(10), 1161-1165.

Medina, Y.; Javalera, D.; Rivas, F.; Valle, Y.; Del Toro, A.; Danej, A.; Topete, A.; Padilla, J.R.; Quintero, A. (2021). Eficiencia de cinco marcadores X-STR para identificación forense en población mestiza del Occidente de México. *Rev Mex Med Forense*, 6(2):38-58. DOI: <https://doi.org/10.25009/revmedforense.v6i2.2922>

<https://doi.org/10.1038/ng.2398>

35. Sweet D, Lorente M, Valenzuela A, Lorente J, Alvarez JC. (1996) Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified Chelex method. *Forensic Science International*. Dec 27;83(3):167–77.
36. Szibor, R., Edelmann, J., Hering, S., Gomes, I., & Gusmão, L. (2009). Nomenclature discrepancies in the HPRTB short tandem repeat. *International Journal of Legal Medicine*, 123(2), 185–186. <http://doi.org/10.1007/s00414-008-0314-7>
37. Teobal, Mayra Xolo, Alfonso Alexander-Aguilera, Ida Soto-Rodríguez, José Armando Lozada-García, and Carolina Barrientos-Salcedo (2020). Genetic analysis of three STR loci (TPOX, FGA, D18S51) in the population of Coyopolan, Veracruz, Mexico. *Revista Mexicana de Medicina Forense y Ciencias de la Salud* 5(1): 24–33.
38. Tillmar, A. O., Kling, D., Butler, J. M., Parson, W., Prinz, M., Schneider, P. M., Gusmão, L. (2017). DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Guidelines on the use of X-STRs in kinship analysis. *Forensic Science International. Genetics*, 29, 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.05.005>
39. Tillmar, A. O., Mostad, P., Egeland, T., Lindblom, B., Holmlund, G., & Montelius, K. (2008). Analysis of linkage and linkage disequilibrium for eight X-STR markers. *Forensic Science International. Genetics*, 3(1), 37-41. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2008.09.006>
40. Valle, Y., Padilla-Gutiérrez, J. R., Rodarte, K., Quintero-Ramos, A., Ortiz, R., Hernández-Zaragoza, G., & Rivas, F. (2008). Five X-chromosome short tandem repeats in a Western Mexican population. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: CCLM / FESCC*, 46(10), 1388–1390. <http://doi.org/10.1515/CCLM.2008.279>
41. Wang, S., Ray, N., Rojas, W., Parra, M. V., Bedoya, G., Gallo, C., Ruiz-Linares, A. (2008). Geographic patterns of genome admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genetics*, 4(3), e1000037. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000037>
42. Weir BS, Cardon LR, Anderson AD, Nielsen DM, Hill WG (2005). Measures of human population structure show heterogeneity among genomic regions. *Genome Res* 15: 1468–1476
43. Wright S. (1969). *Evolution and the genetics of populations*. Chicago, Illinois, USA: University of Chicago.
44. Xch (<http://www.chrx-str.org/>) 2019
45. Zhang, Y.-D., Shen, C.-M., Meng, H.-T., Guo, Y.-X., Dong, Q., Yang, G., Zhu, B.-F. (2016). Allele and haplotype diversity of new multiplex of 19 ChrX-STR loci in Han population from Guanzhong region (China). *ELECTROPHORESIS*, 37(12), 1669-1675. <https://doi.org/10.1002/elps.201500425>

Medina, Y.; Javalera, D.; Rivas, F.; Valle, Y.; Del Toro, A.; Danej, A.; Topete, A.; Padilla, J.R.; Quintero, A. (2021). Eficiencia de cinco marcadores X-STR para identificación forense en población mestiza del Occidente de México. *Rev Mex Med Forense*, 6(2):38-58. DOI: <https://doi.org/10.25009/revmedforense.v6i2.2922>

46. Zidkova, A., Coufalova, P., & Capek, P. (2014). X-STR decaplex study on the population of Czech Republic. *International Journal of Legal Medicine*, 128(2), 271-272. <https://doi.org/10.1007/s00414-013-0860-5>



**Revista Mexicana de Medicina Forense
y Ciencias de la Salud**