



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**Título:** Análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad

**Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico**

**Autor:** Cando Manzano Gabriela Alejandra

**Tutor:** Mgs. Félix Atair Falconí Ontaneda

**Riobamba- Ecuador**

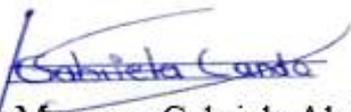
**2023**

## DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, **Cando Manzano Gabriela Alejandra** con cédula de ciudadanía **0604763938**, autora del trabajo de investigación titulado: **Análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 07 de julio del 2023.

  
Cando Manzano Gabriela Alejandra  
C.I: 0604763938

## DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL

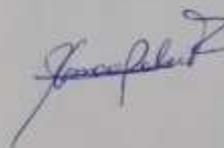
Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **Análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad**, presentado por Cando Manzano Gabriela Alejandra con cédula de ciudadanía **0604763938**, certificamos que recomendamos la **APROBACIÓN** de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor, no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 7 de julio del 2023.

Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE  
GRADO**

Firma



Mgs. Eliana Elizabeth Martínez Durán

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE  
GRADO**

Firma



Mgs. Félix Atair Falconi Ontaneda

**TUTOR**

Firma



## DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL

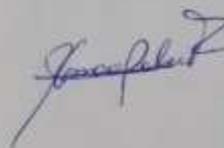
Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **Análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad**, presentado por Cando Manzano Gabriela Alejandra con cédula de ciudadanía **0604763938**, certificamos que recomendamos la **APROBACIÓN** de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor, no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 7 de julio del 2023.

Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE  
GRADO**

Firma



Mgs. Eliana Elizabeth Martínez Durán

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE  
GRADO**

Firma



Mgs. Félix Atair Falconí Ontaneda

**TUTOR**

Firma



## CERTIFICADO ANTIPLAGIO



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO C.I.D.  
Ext. 1133

Riobamba 03 de julio del 2023  
Oficio N° 065-URKUND- CID-2023-15

**MSc. Ximena Robalino Flores**  
**DIRECTORA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**UNACH**

Presente.-

Estimado Profesora:

Luego de expresarle un cordial saludo, en atención al pedido realizado por el **MSc. Félix Falconi Ontaneda**, docente tutor de la carrera que dignamente usted dirige, para que en correspondencia con lo indicado por el señor Decano mediante Oficio N° 0383-D-FCS-ACADÉMICO-UNACH-2023, realice validación del porcentaje de similitud de coincidencias presentes en el trabajo de investigación con fines de titulación que se detalla a continuación; tengo a bien remitir el resultado obtenido a través del empleo del programa URKUND, lo cual comunico para la continuidad al trámite correspondiente.

No	Documento número	Titulo del trabajo	Nombres y apellidos del estudiante	% URKUND verificado	Validación	
					Si	No
1	0161-D-FCS-16-02-2022	Análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad	Cando Manzano Gabriela Alejandra	5	x	

Atentamente,

PhD. Alexandra Pilco Guadalupe  
Delegado Programa URKUND  
FCS / UNACH  
C/c De. Gonzalo E. Bonilla Pulgar – Decano FCS

## DEDICATORIA

A Dios, por sus bendiciones especialmente la salud, valentía, fortaleza e inspiración para vencer todas las dificultades que se presentaron en el transcurso para cumplir este objetivo.

A mis padres Luis Cando y Martha Manzano quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño, A mi hermana Karely Cando por estar conmigo en todo momento, gracias por nunca dejar de creer en mí y a pesar de mis errores estar ahí inculcándome valores que me van a servir para toda la vida.

A mi hija Valentina especialmente que es el motor de vida, para cada día esforzarme más por el presente y el futuro, gracias por ser mi principal motivación.

*Gabriela Alejandra Cando Manzano*

## **AGRADECIMIENTO**

A mi querida Universidad Nacional de Chimborazo, por a verme permitido ser parte de la prestigiosa carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico y a todos mis docentes que con toda su paciencia nos transmitieron sus conocimientos que nos servirán en el futuro, a mi tutor Mgs. Félix Atair Falconí Ontaneda por guiarme para poder culminar en este trabajo, a la Dra. María Del Carmen Cordovez, Mgs. Ximena Robalino y Mgs. Eliana Martínez por todo el apoyo brindado en este proceso para culminar la titulación.

*Gabriela Alejandra Cando Manzano*

## ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	12
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	17
Identificación de loci SSR.....	19
Diseño de cebadores.....	20
Métodos para el análisis de loci str del Codis.....	21
Técnicas para determinación de paternidad que se han utilizado.....	22
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	27
Tipo de investigación.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b> 27
Técnica y procedimiento.....	27
Población.....	27
Muestra.....	27
Método de estudio.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b> 27
Procesamiento Estadístico.....	27
Consideraciones Éticas.....	28
Criterios de inclusión.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b> 28
Criterios de exclusión.....	28
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS.....	53

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Categoría para marcadores de STR.....	32
Tabla 2. Clasificación de secuencias genéticas por número de alelos y cromosomas....	35
Tabla 3. Distinguir las diferentes técnicas para determinar paternidad.....	43

## **RESUMEN**

La presente investigación tuvo como objetivo recopilar información útil en la determinación de la paternidad mediante una revisión bibliográfica para posteriormente organizar y comprenderla, es un problema que afecta a toda la población a nivel mundial en general debido a que en países latinoamericanos no hay la apertura para realizarse las pruebas fácilmente. Por tal motivo se ha buscado las formas de mejorar el método para la detección de paternidad que no conlleve mucho tiempo, sea más efectivo se obtuvo información sobre las secuencias genéticas y pruebas de paternidad, realizando comparaciones mediante figuras y tablas para la comprensión sistemática de resultados mediante la investigación de tipo descriptiva, recopilando información de estudios expuestos en bases de datos científicas de gran impacto internacional como: Scielo, PubMed, Elsevier, Redalyc, Scopus, Google académico, además de libros y sitios web. La investigación estuvo conformada por una población de 132 y una muestra de 56 fuentes bibliográficas, aplicando criterios de selección y extracción de datos como el tiempo de publicación de la información comprendido entre los años 2011 a 2021. Donde el PCR se identificó como la técnica genéticas convencionales y moleculares, realizando su interpretación y comparaciones en cuanto a las otras técnicas como hibridación, electroforesis capilar. El PCR es la prueba más valiosa o principal por la intervención de secuencias genéticas para determinar paternidad, mientras que las otras técnicas se demoran más en la entrega de resultados, son poco utilizadas debido a la restricción de analizar todo el genoma y con un costo mucho mayor.

**Palabras clave:** Secuencias repetidas en tándem, reacción en cadena de la polimerasa, paternidad, perfilación de la expresión génica, pruebas genéticas.

## **ABSTRACT**

The objective of this research was to interpret the cytogenetic techniques for the diagnosis of trisomies, this type of aneuploidy is a health problem that affects all the general population because in many countries it cannot be detected in time due to the lack of equipment and specialized personnel, for this reason it has become necessary established strategic points on the prevalence of reported trisomies together with the cytogenetic techniques used for their identification, making comparisons through figures and tables for the systematic understanding of results through the investigation of descriptive type, collecting information from studies exposed in scientific databases of great international impact such as: Scielo, PubMed, Elsevier, Redalyc, Scopus, Google academic, as well as books and websites. The investigation consisted of a population of 130 and a sample of 41 bibliographic sources, applying selection criteria and data extraction such as the publication time of the integrated information between the years 2011 to 2021. The trisomies reported with the highest prevalence were trisomy 21,18 and 13, conventional and molecular cytogenetic techniques were identified, performing their interpretation and comparisons between advantages and disadvantages. The karyotype despite having. After many years of use, it continues to be the gold standard for the diagnosis of aneuploidies, while molecular techniques are faster in delivering results, they are not however, they are rarely used due to the restriction of analyzing the entire genome and with a much higher cost relative to karyotyping.

**Keywords:** Tandem repeat sequences, polymerase chain reaction, paternity, gene expression profiling, genetic testing.

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es el principal componente de los cromosomas del núcleo de las células que componen a los organismos vivos. La molécula de ADN está formada por la repetición de unidades químicas menores llamadas bases <sup>(1)</sup>.

En el cuerpo humano cada célula tiene 46 cromosomas divididos en 23 pares y en cada uno los dos cromosomas son homólogos entre sí. Por lo que de ellos uno es del padre y el otro cromosoma es de la madre <sup>(1)</sup>.

El conocimiento del Genoma Humano es un eje principal en el diagnóstico y tratamiento para un considerable número de enfermedades como la diabetes, enfermedades cardiovasculares, enfermedades mentales, cáncer, etc. Con el estudio de la biología molecular se ha avanzado mucho, existen unos 4 mil desórdenes genéticos; sin embargo, hasta ahora sólo se ha logrado identificar un poco más de 60 genes involucrados en enfermedades <sup>(2)</sup>.

Es importante la unión de las pares de bases para seguir con el proceso de mecanismo por donde las moléculas de ADN se van duplicando es decir que mientras se replican van teniendo la misma información genética cada una de las células van realizando su proceso de división, y principalmente es la base para los diferentes métodos usados en la mayoría de experimentos cuando se realiza la secuenciación de ADN <sup>(3)</sup>.

El DNA codificante, en biología es de mucha importancia ya que gracias a esto, tenemos generalmente poca mutabilidad entre las personas, en este punto no debemos tomarle en cuenta al sistema HLA. Desde el punto de vista de la identificación es mucho más interesante el DNA no codificante que no es transcrito a RNA y que no supone nada en términos de producción de proteínas, aunque tiene otras funciones biológicas importantes <sup>(4)</sup>.

El ADN es muy importante ya que es muy variable polimorfológicamente es decir que tiene muchos cambios en su forma o que tiene cambios dentro de la secuencia de ADN, estos

cambios ocupan un gran porcentaje dentro del genoma humano. El ADN no codificante es repetitivo y la mayor parte también tiene muchos cambios en el ADN en tandem.<sup>(5)</sup>

La comprobación de ADN es la argumento más verídica para constituir la paternidad o la engendramiento, conforme sea inevitable; en el hijo no contiene dos o más de los marcadores genéticos del fingido padre o fundamento, representa que biológicamente él o ella no es el padre o la origen; justamente se puede saber un producto imprescindible, en el sumario de que sea retirada la paternidad o la concepción, en un 100, es hablar, con zarpa infalibilidad cumplido, que se puede sobrevenir a notar zarpa paternidad o gravidez del 0% <sup>(5)</sup>.

En el presente estudio se abordó temáticas sobre pruebas de paternidad o de maternidad está basada en pruebas que se realizan mediante ADN, biológica y científicamente se puede saber la semejanza genética y la correlación de consanguinidad auténtico en relación de quién fecundó. El ADN es la herencia genética que está en las células del cuerpo, y este es el medio más apto para lograr una identificación <sup>(1)</sup>.

¿Qué datos de las secuencias útiles existen hasta el momento para el análisis de paternidad considerando si es positivo pertenece?

Las secuencias genéticas que se aplican para determinar la paternidad de una persona, ayudan a encontrar y describir el código genético que cada uno poseemos como personas. Las pruebas de paternidad es un estudio genético, se realiza en un laboratorio que tiene como objetivo evidenciar un parentesco entre padres a hijos ya sea el cado paterno y materno <sup>(6)</sup>.

En el año 1900 Karl Landsteiner descubrió el sistema de los grupos sanguíneos por medio de los antígenos tipo A o tipo B que tenían mucha relación con los glóbulos rojos, se conoce ABO que todos creían que era el método más correcto en el año de 1915 y circunscrito como patrón de herencia en el año 1924 por Felix Bernstein <sup>(5)</sup>.

El sistema ABO se manejó oficialmente por primera vez en 1924, en Alemania; pero su uso se las realizaba en Italiana, Escandinava y Austriaca. En Estados Unidos, la asociación médica dio un resultado positivo en el uso de esta técnica en 1937. En 1940 Levine y Stetson descubrieron el sistema Rh, y detallaron nuevos subgrupos; sin embargo, con este sistema,

al igual que con el sistema ABO, lo único que se podía formar con 100% de certeza era la exclusión de la paternidad, es decir, cuando la persona tiene interés en realizar el examen no es el progenitor verdadero <sup>(7)</sup>.

El descubrimiento de los antígenos afines a los glóbulos blancos, distinguido como sistema HLA, permite saber la paternidad por medio de patrones hereditarios. Como es la técnica de la técnica de ADN, aplicada a los antígenos HLA, se llegó a resultados de paternidad que tenían una probabilidad de que sea verídico con el 80%, lo cual establecía que no era plenamente efectivo saber quién era el antecesor biológico <sup>(7)</sup>.

En 1985 se dio a conocer por primera vez la técnica RFLP, en la que intervienen enzimas llamadas de restricción, esto nos permite cortar el ADN mediante la técnica de electroforesis en gel, que se utiliza para separar moléculas o macromoléculas y separa fragmentos de ADN en lugares conocidos por su gran variabilidad, esta técnica básicamente se utilizaba en casos en donde específicamente se buscaba una secuencia de ADN en las personas <sup>(7)</sup>.

Se manipuló por primera vez en 1987, en los Estados Unidos de Norteamérica, por un tribunal de la Florida. La técnica de estudio molecular fue muy importante ya que tenía muchas variantes más para la determinación de perfiles genéticos para saber si el presunto padre o madre debe ser incluido o excluido. La excepción de la paternidad o de la maternidad mediante la técnica ADN<sup>(7)</sup>.

A mediados de la década de los noventa, esta técnica es descrita como tecnología de punta, es decir una de las mejores técnicas para la determinación de paternidad y por ende la que más eficacia tenía, ya que brinda seguridad, permite establecer un resultado verídico y descartar toda posibilidad de duda <sup>(7)</sup>.

El ácido desoxirribonucleico ADN está formado por un azúcar (2-desoxiDribosa), por ácido fosfórico y por bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina y timina). La estructura del ADN es de doble hélice y se encuentra en las bases nitrogenadas (adenina con timina y guanina con citosina), en el interior de la molécula <sup>(7)</sup>.

Según la OMS para el año 2004 afirmó el primer patrón internacional para una prueba genética humana donde el manejo de estas técnicas va a aumentar la eficacia la veracidad y

con unos mejores resultados. Un estudio reciente cifraba en más de 700 000 las pruebas genéticas efectuadas en 2002 sólo en la Unión Europea. Según la encuesta, un mínimo de 700 laboratorios y 900 centros médicos realizaban este tipo de pruebas en Europa<sup>(8)</sup>.

América Latina, y en especial Colombia, tardaron en llegar con este avance tecnológico lo cual con el tiempo ha tenido mucha importancia que ha adquirido el derecho a la identidad y el uso de la genética para la resolución de los casos jurídicos para establecer una paternidad. Por este motivo, se han incrementado a lo largo de tiempo en los laboratorios particulares y del Estado los métodos utilizados y recomendados <sup>(8)</sup>.

En Ecuador hasta el año 2016 las pruebas gratuitas de paternidad se realizaban solo en dos laboratorios de Quito. En cifras significa que, de los 16 598 estudios de ADN realizados en esos seis años, solo 5 800 (34%) fueron para casos de investigaciones penales <sup>(8)</sup>.

Actualmente saber la paternidad o la maternidad es muy importante porque a lo largo del tiempo se ha convertido en un problema de Salud Pública Mundial siendo una de las principales causas es saber si un hombre o mujer es el progenitor biológico, para poder reconocer e implantar las relaciones de parentesco, lo cual la Fiscalía General del Estado, hablamos de paternidad y esto es mas en casos jurídicos ya que muchas mujeres se quedan sin el apoyo económico de paterno y en el caso de materno parece imposible pero se ha dado el estudio que en muchos lugares cambian a los niños al nacer y entregas a los niños a diferentes familias <sup>(8)</sup>.

En el año 2010 se realiza pruebas de paternidad con un 99.99% de eficacia y a manera de beneficio sin costo alguno para el usuario ya que las pruebas de ADN pueden llegar a costar en los Laboratorios particulares hasta \$700 dólares y cuando la prueba se realiza durante el embarazo su costo va desde los \$300 dólares, según los estudios realizados las personas que no se realizan las pruebas de paternidad para quienes van a obtener un beneficio como la pensión alimentaria es por solvencia económica<sup>(8)</sup>.

En la revisión de las estadísticas en los últimos 5 años, 10.759 pruebas de paternidad, con un 99.99 % de certeza, realizó el Laboratorio de Genética Forense y ADN de la fiscalía general del Estado en Quito. En este laboratorio ofrece exámenes de ADN para comprobar el parentesco de niñas, niños y adolescentes con sus progenitores y parientes. Además se

practican pericias para el análisis de vestigios biológicos, como sangre, cabello, saliva, piel, osamentas <sup>(8)</sup>.

En el Ecuador existen 24 provincias con 17.5 millones de habitantes de los cuales no se podría dar un informe o un análisis estadístico detallado de tal situación, tomando en cuenta que los laboratorios que realizan pruebas de paternidad, según lo investigado existen 2 laboratorios que realizan pruebas de paternidad en la ciudad de Quito, que trabajan con la judicatura y cabe recalcar que son totalmente sin costo alguno <sup>(8)</sup>.

Los resultados que se han obtenido mediante las distintas técnicas para la determinación de paternidad están dados en los casos de problemas de identidad de paternidad, se analizaron 2.758 casos de paternidad que no tenían un resultado claro o verídico, en donde las personas son originarias de todas las provincias de Ecuador. El total de casos analizados fue de 2.758, con un promedio anual de 344,75 casos. El promedio de pericias privadas es del 42,72% <sup>(8)</sup>.

Por lo tanto, se requiere dar a conocer de manera apropiada y fácil en donde se pueda descubrir a la demanda que haya en éste, ya que de los métodos manuales se pasó a los métodos altamente tecnificados y controlados que aumentan la velocidad y calidad de los análisis de los marcadores genéticos y que permiten un mejor resultado en cuanto al análisis de paternidad <sup>(8)</sup>.

Esta revisión bibliográfica tuvo como objetivo principal investigar el análisis de secuencias genéticas aplicadas en la determinación de paternidad, para ampliar de mejor manera el conocimiento de las técnicas actuales para determinar paternidad y así de esta manera ayudar a pacientes que necesiten de estos tipos de exámenes para comprobar su paternidad.

Para lograr este objetivo se realizó una revisión minuciosa para encontrar la información correcta basándome en los siguientes puntos:

1. Recopilar información de secuencias genéticas útiles en la determinación de la paternidad mediante revisión bibliográfica digital para organizarla y comprenderla
2. Distinguir las diferentes técnicas para determinar paternidad mediante una revisión bibliográfica digital.
3. Comparar mediante las revisiones bibliográficas diferentes criterios de los autores en cuanto a la secuencia genética, pruebas de paternidad.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

La determinación de la secuenciación del ADN nos ayuda a poner en orden las bases que conlleva la molécula de ADN como es la Adenina (A) siempre forma pareja con Timina (T); Citosina (C) siempre forma pareja con guanina (G), la cual con la doble hélice del ADN nos ayuda al emparejamiento de estas bases <sup>(2)</sup>.

Las secuencias genéticas en la actualidad se utilizan en varias técnicas para la determinación de paternidad, lo que ayudan a describir todo el contenido de ADN, cada célula humana contiene muchas instrucciones que sirven como código genético y es importante porque gracias a ello se sintetizan proteínas que ayudan a algunos componentes esenciales del nuestro cuerpo <sup>(9)</sup>.

La información genética de las células humanas está dividida en dos genomas: El primero es el primer gran genoma de una herencia compartida de ambos progenitores en investigaciones hemos podido aprender que la inteligencia se hereda de la madre y el color de ojos del padre es un ejemplo claro del primer genoma y el segundo es el pequeño genoma mitocondrial que transmiten exclusivamente las madres en sus óvulos <sup>(9)</sup>.

En el núcleo celular se encuentra en genoma nuclear en don el ADN ocupa el 99% del 100% del contenido de ADN. El mismo se encuentra ligado a muchas proteínas que son de vital importancia la cual va formando distintas estructuras que se forman por cromosomas y podemos obsérvalas por medio del microscopio como las células realizan su división. Un cigoto está compuesto normalmente por 46 cromosomas 23 cromosomas de la madre y los otros 23 del padre <sup>(10)</sup>.

Los segmentos de ADN es un gen donde varían los tamaños y por ende varia la cantidad de nucleótidos y cada uno de estos contiene mucha información para sintetizar proteínas. Actualmente son aproximadamente 30.000 genes humanos en donde se trabaja en función de 50 a 100 de estos genes, pero todas las cantidades dadas estarían representando una pequeña fracción del ADN total de la célula <sup>(6)</sup>.

Mediante el análisis de las diferentes regiones de SRT, se obtienen los perfiles genéticos, los cromosomas van a poder obtener una mayor parte autosómica que funcionaría individualmente, esto ayudaría al alcance de varios índices donde las frecuencia en donde aparecen los perfiles genéticos dentro de la población baja un poco lo que imposible que en una población muy grande haya un individuo con la misma carga genética , secuenciación genética igual al de otra persona que tenga el mismo perfil de ADN<sup>(6)</sup>.

Los perfiles genéticos de SRT los que son autosómicos tienen una herencia del 50% tanto del padre como de la madre lo que cada uno de los cromosomas tiene una diferenciación genética para el análisis de familiares directos y esto tienen autonomía para excluir el porcentaje que sería perteneciente a los padres falsos que serían excluidos después del análisis donde intervienen de 3 a 17 STR <sup>(6)</sup>.

Las secuencias genéticas (SSR o STR, Simple Sequence Repeats o Short Tandem Repeats), Son más variables en los genomas, ya que están estructuradas por unidades muy cortas en donde ingresan de 1 a 6 pares en donde se van repitiendo muchas veces en repeticiones cortas en tandem (lo más frecuente mono, di, tri o tetra, aunque también penta o hexa nucleótidos) y por el sitio que ocupan en el genoma (locus). La variación y la repetición dependen mucho de genomas <sup>(11)</sup>.

Las secuencias genéticas tienen demasiada variación y la variación se da a conocer por elementos básicos en cuanto a longitud entre los diferentes alelos. Estas diferencias entre los alelos se dan por la cantidad de repeticiones en las que varían cada caso<sup>(1)</sup>. Se ha considerado que la variación de los microsatélites varía entre  $10^{-2}$  y  $10^{-5}$  por cada generación en la que se da y la forma en donde se explica la cantidad de polimorfismo, en cuanto al tamaño es tanto de errores que se dan durante la replicación del ADN <sup>(12)</sup>.

El uso de secuencias de microsatélites como marcadores genéticos comienza con el desarrollo y popularización de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa). A pesar de que los microsatélites tienen una alta tasa de cambios dentro de las regiones que rodean a los microsatélites están más almacenadas y se utilizan para la amplificación específica de alelos en cada locus <sup>(5)</sup>.

Los SRT han sido los marcadores preferidos para las pruebas de paternidad a lo largo de sus años ha ido mejorando su identificación, ya que su método de detección se basa en la amplificación por PCR de la región que los contiene utilizando cebadores complementarios a las regiones vecinas y después de la visualización sabes que la diferencia de tamaño éntrelos mismos. En su evolución se necesita un poco más de información de secuencia, por lo general no eran marcadores muy comunes en las personas <sup>(1)</sup>.

Al inicio para dar a conocer las regiones más importantes de los SRT se utilizaban transmisiones de las repeticiones cortas duplicadas para cribar genotecas completas, realizando clones repetitivos con un resultado positivo. Esta estrategia fue muy efectiva en el grupo de organismos que ya tiene una clasificación en los que las secuencias de microsatélites eran muy elevadas o cuando se requería un número reducido de marcadores<sup>(13)</sup>.

Con el pasar del tiempo se implementaron más métodos en donde estos ayudaban a elevar la eficiencia en la determinación de microsatélites. El método más utilizado ha sido las genotecas genómicas enriquecidas en cada persona por microsatélites, en las que los fragmentos utilizados para construir la genoteca ya contienen varios microsatélites <sup>(11)</sup>.

Las ventajas que los microsatélites nos brindan se deben a la amplificación PCR con cebadores largos, específicos de cada locus, ya que el tejido o la muestra que vamos a dar a conocer no es necesariamente que tenga buena calidad, e incluso ADN esta con muchos más avances de degradación en una buena cantidad que nos beneficia para el análisis <sup>(6)</sup>.

Es principalmente codominante, es decir que el alelo tiene un tipo de herencia que contienen un mismo gen, pero nos brindan información diferente lo cual nos permite distinguir de homocigotos y heterocigotos, la extensa distribución que tiene dentro del genoma aumenta la reproducibilidad y variabilidad (multialélicos) los han convertido en uno de los sistemas de marcadores genéticos que más información llevan y son los más utilizados <sup>(2)</sup>.

### **Identificación de loci SSR**

La identificación de secuencias con motivos SSR se pueden dar a través de genotecas, completas o enriquecidas en secuencias microsatélites, tomando en cuenta que incrementan

la cantidad de repeticiones en tandem de silico gel basándose en las bases de datos mediante ciertos programas y aplicaciones informáticas (Repeat master, Sputnik, Tandem Repeat Finder, etc) está cobrando especial importancia <sup>(10)</sup>.

Estas herramientas pueden detectar distintos tipos de microsatélites <sup>(10)</sup>:

a) Microsatélites perfectos: repeticiones en un número mínimo de unidades sin interrupción y sin repeticiones adyacentes (CACACACACACACACACA) <sup>(10)</sup>.

b) Microsatélites compuestos: dos o más repeticiones con un número mínimo de unidades repetidas ininterrumpidas (CACACACACACACACAGAGAGAGAGAGAGA) <sup>(10)</sup>.

c) Microsatélites interrumpidos: repeticiones ininterrumpidas con un número mínimo de repeticiones y separadas por un máximo de 4 pares de bases (CACACACACACACACACA TTTCACACACACACACACACA). Los SSR pueden encontrarse tanto en secuencias codificantes como no codificantes, pero el tipo de unidades repetidas y el número de repeticiones puede variar <sup>(10)</sup>.

## **Diseño de cebadores**

Los microsatélites tiene mucho grado de variación, y las regiones que son principales almacenadas y por ello se usan para la amplificación del locus correspondiente para distintos individuos de la especie. La transferencia de cebadores entre personas sólo es posible cuando se trabaja con taxones cercanos, que pertenecen a una misma persona ya sea en el mismo género <sup>(14)</sup>.

La transferencia de cebadores entre personas que son muy poco cercanas o no tiene un grado alto de consanguinidad en estos casos puede resultar en la aparición de alelos nulos, debido a distintos cambios que son ya seleccionados este tipo corresponde a las uniones de los cebadores específicos. Esto nos ayuda a preservar los heterocigóticos como homocigóticos, y puede suponer a la larga la acumulación de grandes errores en los análisis de datos si son los alelos nulos <sup>(14)</sup>.

## **Visualización de STR e interpretación**

Tras la amplificación del fragmento que contiene el STR, se realiza una visualización de varios segmentos <sup>(14)</sup>.

### **Interpretación: Dominancia-codominancia**

Los marcadores de STR se los analizan como codominante y la variación de los alelos se diferencian por su tamaño, en varios casos se diferencian como dominantes lo cual esto ocurre cuando los cebadores no amplifican en algún genotipo, dando lugar a un alelo nulo, debido a que la secuencia de unión al cebador no se ha conservado en estos genotipos <sup>(14)</sup>.

### **Alelos de tamaños similares y homoplasia**

En varios casos depende mucho del sistema que se utiliza del sistema de separación de fragmentos ya que detecta el tamaño de los alelos y al final de su desarrollo se interpreta teniendo un alelo único. Esto ocurre normalmente cuando se emplean geles de agarosa, en estos casos técnicas de mayor resolución como la electroforesis capilar o HRM serían más adecuadas <sup>(14)</sup>.

Los procesos de duplicación en el genoma, en algunas ocasiones los cebadores presentan secuencias complementarias a varias regiones, de forma que se conciben varios loci amplificados, que a su vez pueden presentar varios alelos debido a su diferente evolución <sup>(14)</sup>.

### **Artefactos**

En muchos casos la interpretación de resultados también se ve dificultada por la aparición de artefactos y bandas extra generados en el proceso de amplificación o durante la electroforesis <sup>(14)</sup>.

### **Métodos para el análisis de loci STR del Codis**

#### **Extracción del ADN**

La muestra de DNA se puede tomar en cualquier tipo de muestra. En el caso de las pruebas de paternidad lo más habitual es usar las células bucales es decir desde e interior de las mejillas. Otras fuentes de ADN procedente de la escena de un delito pueden ser sangre, semen, tejido de una víctima mortal, células del folículo capilar o incluso saliva. El ADN extraído de las pruebas policiales se comparará con el ADN extraído de muestras de referencia, de individuos conocidos <sup>(15)</sup>.

## **Amplificación por PCR**

Los cebadores de ADN se han mejorado en cuanto a los procesos dentro de una técnica para permitir la amplificación de múltiples loci STR realizando así una sola vez una mezcla de reacción. Reconciliando cuidadosamente la distancia desde los cebadores hasta la secuencia tetramérica repetitiva, los productos de diferentes loci no se solaparán durante la electroforesis en gel <sup>(16)</sup>.

## **Detección de los ADN tras la amplificación por PCR**

Los cebadores de PCR son utilizados para el análisis de STR tienen moléculas fluorescentes unidas de forma covalente al cebador. Para ampliar el número de loci diferentes que se pueden analizar en una sola reacción de PCR, se usan múltiples conjuntos de cebadores con marcadores fluorescentes de diferente "color". Tras la reacción de PCR, se añaden a la mezcla de reacción patrones de longitud de ADN internos y se separan los ADN según su longitud se realiza la técnica de electroforesis capilar mediante un equipo automatizado <sup>(13)</sup>.

Los picos de ADN muestras se sigue realizando el proceso estos siguen determinándose detalladamente según salen del gel, mediante activación por láser. Los equipos donde se realiza la identificación de secuenciación que se usan para separar los alelos y detectarlos son de los que se usan actualmente en el Proyecto de Secuenciación del Genoma Humano, con una salida de datos digital que se puede analizar mediante programas de ordenador específicos <sup>(13)</sup>.

## **Técnicas para determinación de paternidad que hasta la actualidad se han utilizado**

### **RFLP (restricción de fragmentos de longitud polimórfica)**

El polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción es una técnica que dentro de su procedimiento intervienen los patrones de ADN únicos en zonas específicas del genoma de una persona. Dentro de la familia de proteínas nos encontramos con las "enzimas de restricción", la cual puede detectar y recortar el ADN en lugares específicos, después del procedimiento nos da como resultado generar fragmentos de tamaños que son altamente variantes de acuerdo con el perfil de ADN de una persona <sup>(17)</sup>.

En los fragmentos tomados como un modelo básico principal entre la persona y el papá normalmente se establece la paternidad. Tomando en cuenta que cada enzima de restricción tiene una secuencia propia que tiene el objetivo de reconocer, pequeñas diferencias en el ADN que sería el resultado de cortes en diferentes sitios. Al tomar el modelo principal en los fragmentos de ADN cortados por la enzima de restricción, se puede confirmar la paternidad. Aun cuando esta técnica se ha usado para pruebas de paternidad y estudio forense, podría ser un proceso muy lento<sup>(17)</sup>.

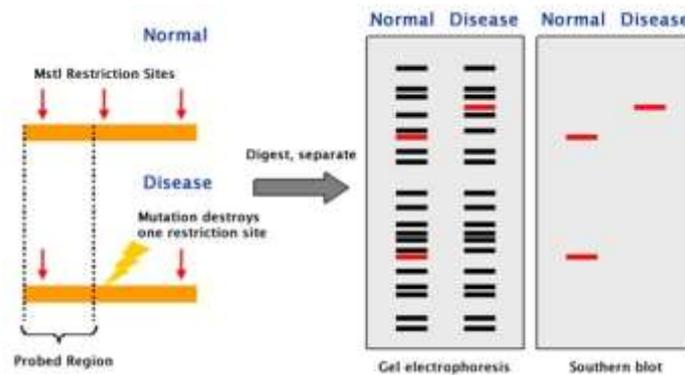


Ilustración 1. Restricción de fragmentos de longitud polimórfica

**Fuente:** Rincón Sandoval CM, 2014.

### Pruebas moleculares

La recolección de datos de ADN se realiza una vez que tengamos el resultado de la secuencia del gen que vamos a estudiar. Para los cambios que se realiza de ADN, las pruebas directas de ADN es el procedimiento más eficaz, en especial, si se desconoce el manejo de la proteína y no se puede desarrollar una prueba bioquímica.

Se puede hacer una prueba de ADN en cualquier tipo muestra de tejido, inclusive con muestras bastante pequeñas. Para hacer las pruebas, tienen la posibilidad de utilizar diferentes tecnologías moleculares, como la secuenciación directa, los ensayos de actitud en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) y la hibridación<sup>(12)</sup>.

### PCR

Es el método más utilizado actualmente para desarrollar los segmentos deseados de ADN por medio de la repetición de los ciclos (separación del ADN de doble cadena inducida por calor), la unión (unión de cebadores específicos del segmento anhelado a una cadena parental

de ADN) y la elongación (extensión de las secuencias cebadoras para conformar una totalmente nueva réplica de la sucesión deseada). Comentado conjunto de mutaciones y después se realizarán pruebas más a detalle como la secuenciación <sup>(13)</sup>.

La cadena de la polimerasa es un procedimiento en el cual los fragmentos del ADN de una persona se replican en una gran cantidad de veces en una “reacción en cadena”. Esto da paso a crear porciones de ADN desde solo una pequeña proporción de ADN molde <sup>(13)</sup>.

Los fragmentos una vez ya realizada la técnica los etiquetamos para pasar por la técnica de fluorescencia que permite la visualización de los fragmentos en un gel. Si alrededor de la mitad de los fragmentos analizados concuerdan con el infante y el papá potencial, la paternidad se asegura con una exactitud del 99,99% <sup>(13)</sup>.

El objetivo de la reacción en cadena de la polimerasa, más bien conocida por sus siglas en inglés como PCR (del inglés, polimerase chain reaction), consiste en amplificar o generar millones de copias secuencias del genoma, en este caso STRs lo que genera el perfil genético.

La PCR consiste en 25-30 ciclos en los que suceden los siguientes tres pasos en cada ciclo:

- 1) desnaturalización, por calor se desnaturalizan (separan) las cadenas de ADN
- 2) alineamiento de los iniciadores o primers que se unen por complementariedad de bases y delimitan las regiones que se van a replicar
- 3) extensión, en cada ciclo de PCR se duplica la secuencia blanco (STRs), por lo que en 25 a 30 ciclos teóricamente habrá millones de copias, facilitando su análisis

En la actualidad la técnica de PCR en genética ha sido mejorada ya que incluye varios pares de primers para amplificar de 15 a 24 marcadores simultáneamente, en la llamada PCR múltiplex, la química de amplificación de los kits comerciales para perfiles genéticos, ya que resisten mucho más a inhibidores para las diferentes muestras <sup>(18)</sup>.

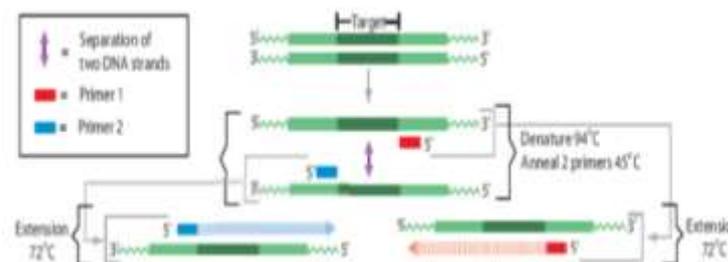


Ilustración 2.PCR

Fuente: Picó Sirvent, 2015

## Hibridación

Es una técnica genética molecular para determinar los ingresos o pérdidas del ADN y que se pueden dar a conocer con los estudios cromosómicos que se realizan normalmente en rutina. Este procedimiento consiste en que la parte del ADN del paciente etiquetado con moléculas fluorescentes y el ADN <sup>(13)</sup>.

La técnica CGH puede identificar específicamente los cromosomas que no son detectadas comúnmente por el cariotipo convencional esto permite realizar eliminaciones o duplicaciones <sup>(13)</sup>.

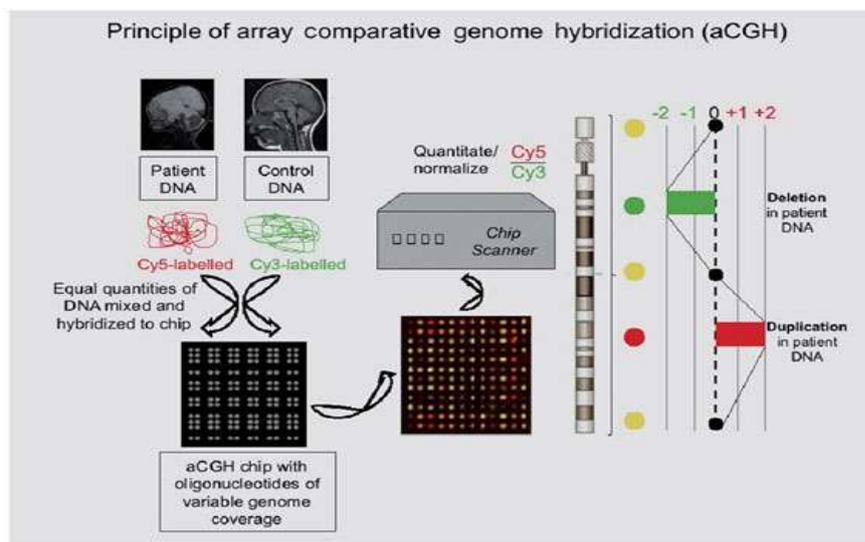


Ilustración 3. Hibridación

Fuente: Entrarla C, 2020

## Electroforesis capilar (EC)

En los STR los alelos se determinan y se diferencian por el número de veces que se repite una secuencia corta, esto significa que el tamaño va a ser diferente entre un alelo y otro. Para ver estas diferencias se emplea la Electroforesis Capilar, en donde la reacción de PCR de cada muestra se separa a través de un capilar que contiene polímero por acción de un campo eléctrico, este proceso dura alrededor de 30 minutos por muestra <sup>(19)</sup>.

En esta técnica es fácil la determinación de los resultados para ofrecernos una representación gráfica de la corrida llamada electroferograma. La ventaja de la EC es que por su relación área/volumen, los capilares dispersan eficientemente el calor, lo que permite aplicar voltajes elevados y separar de forma rápida y precisa los fragmentos amplificados <sup>(19)</sup>.

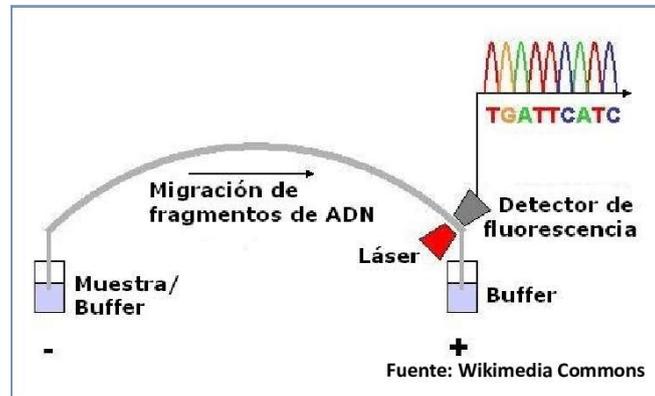


Ilustración 4. Electroforesis Capilar  
**Fuente:** Entrarla C, 2020

## CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

El presente trabajo “Análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad” es una investigación según:

- ✓ Nivel: Descriptiva ya que se muestra la información encontrada en diversas bases de datos bibliográficos revisados.
- ✓ Diseño: documental y no experimental, pues todo el proceso de la investigación está basado en la búsqueda, análisis, e interpretación de los datos e información obtenida a partir de las revisiones bibliográficas.
- ✓ Secuencia temporal: Cohorte es transversal porque se realiza con un sólo bloque de resultados en un periodo determinado.
- ✓ Cronología de los hechos: retrospectivo a partir de las publicaciones sobre el tema en las diferentes bases de datos bibliográficos.

### **Población**

La población estuvo conformada por 152 artículos seleccionados en los cuales se incluyeron: PubMed (57), Scopus (17), Google académico (45), Embase (14), Lilacs (5), Scielo (13), Medigraphic (1), siendo la totalidad de literatura científica relacionada con el tema a investigar y publicada en las bases de datos bibliográficas desde enero del año 2012 a septiembre del año 2022.

### **Muestra**

La muestra quedó establecida por 40 artículos de revisiones bibliográficas relacionadas con el análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad, actualizadas con una vigencia entre 5 y 10 años de ser publicadas y disponibles en las bases de datos seleccionadas en los cuales se incluyeron: PubMed (13), Scopus (17), Lilacs (5), Scielo (5).

### **Técnicas y procedimientos**

**Técnica:** Observación

**Procedimiento:** Se revisaron todas las bases de datos bibliográficos, recolectándose la información descriptivamente de artículos científicos sobre el análisis de las secuencias genéticas para la determinación de paternidad por otros autores, para posteriormente según la estrategia de búsqueda seleccionar los estudios que cumplían con los criterios de inclusión.

## **Estrategia de búsqueda**

En este proyecto de investigación se realizó una revisión bibliográfica sistemática, con el objeto de investigar sobre las secuencias genéticas para determinar paternidad. Se utilizaron términos de búsqueda, en español e inglés: “secuencias genéticas”, “marcadores genéticos”, “pruebas de paternidad”, “STR”, “Análisis de secuencias”, “genotipos”, “código genético”, “Identificación de SRR”, “Bioinformática genómica”, a las búsquedas se adjuntaron operadores booleanos. La única revisora fue la autora de este proyecto de investigación. Las variables fueron: secuencias genéticas (variable independiente), y prueba de paternidad (variable dependiente).

## **Criterios de inclusión y exclusión**

### **Criterios de inclusión:**

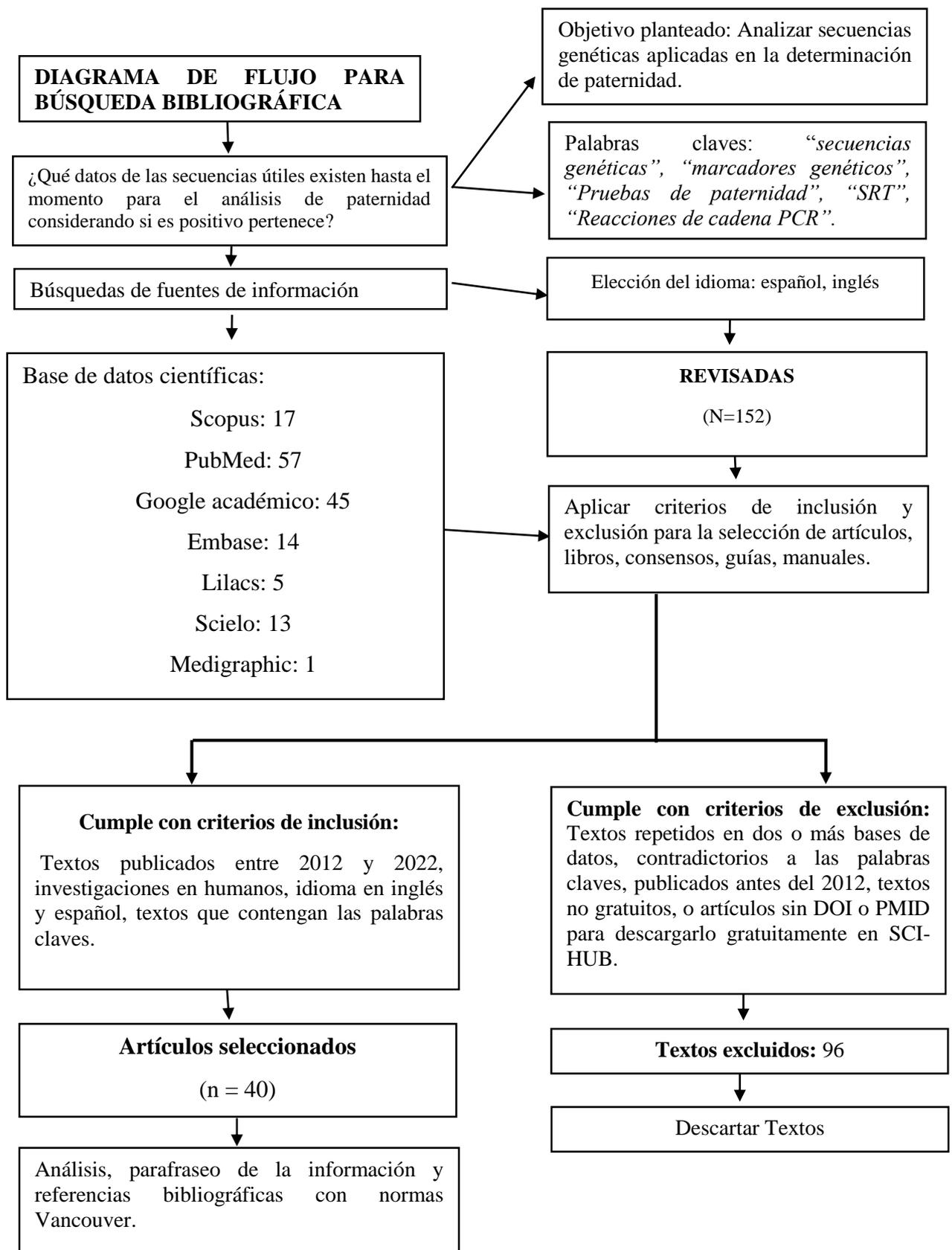
- ✓ Textos publicados entre 2012 y 2022 (últimos 10 años).
- ✓ Investigaciones en humanos.
- ✓ Idioma inglés o español.
- ✓ Textos que contengan las palabras claves.

### **Criterios de exclusión:**

- ✓ Textos no accesibles (no gratuitos).
- ✓ Artículos sin el DIO o PMID para descargarlo gratuitamente.
- ✓ Textos repetidos en dos o más bases de datos
- ✓ Textos contradictorios a las palabras claves.
- ✓ Textos publicados antes del 2012.

### **Criterios de selección y extracción de datos:**

Se describió estrategias de búsqueda bibliográfica con una secuencia siguiendo el diagrama de flujo que se muestra a continuación:



## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Gracias a los estudios genéticos realizados a nivel mundial se puede evaluar las técnicas para determinación de paternidad por medio de secuencias genéticas, que se relacionan entre ellas, lo que hace importante el estudio para poder comprobar una paternidad.

### **Secuencias Genéticas**

Dentro de la comparación de criterios en cuanto a las secuencias genéticas decimos que según Sáenz, las secuencias STR se conforman constantemente según la longitud de las unidades de repetición. Las unidades de repetición de los dinucleótidos y trinucleótidos constan de dos o tres nucleótidos repetidos en forma recurrente y consecutiva<sup>(20)</sup>.

### **Análisis**

#### **Sistema STR**

En la actualidad Herráez Ángel<sup>(21)</sup>, nos da a conocer otros tipos de sistemas de STR, como las secuencias de repetición de tetranucleótidos y pentanucleótidos son las más utilizadas para fines de determinación de secuencias genéticas debido a su alta frecuencia de distinción ya que son muy polimórficas, mientras que las secuencias de hexanucleótidos son menos comunes en el genoma humano<sup>(21)</sup>.

### **Marcadores Genéticos**

Edwards<sup>(22)</sup> da a conocer que para designar el nombre de un marcador genético se utiliza la nomenclatura tradicional teniendo mucho que ver con la localización en el genoma, El ADN de la Sociedad Internacional de Genética Forense (ISFG, del inglés International Society for Forensic Genetics) define la nomenclatura de los alelos de los marcadores genéticos con base en el número de unidades de repetición presentes en cada uno de ellos<sup>(22)</sup>.

De esta manera, Mullis KB nos dice que en un individuo que el marcador TPOX es 12/11, uno de sus alelos tiene 12 unidades repetitivas de la secuencia AATG, mientras que el otro tiene 11. La amelogenina no es un locus de repeticiones cortas en tándem, pero tiene dos

tipos de alelos, el X y el Y, que permiten identificar el sexo de un individuo. La normalización de la nomenclatura utilizada garantiza la eficacia en el procedimiento para brindar resultados <sup>(23)</sup>.

Los marcadores de SRT son secuencias genéticas con una alta capacidad de modificarse, entre y dentro de individuos. La variación se da normalmente como diferencias en longitud entre los distintos alelos del mismo locus. Las diferencias en longitud se dan a partir de un número diferente de repeticiones, estos los utilizamos normalmente para determinar parentesco <sup>(24)</sup>.

### **Discusión**

El uso de las secuencias microsatélites como marcadores genéticos se inicia con el desarrollo y generalización de la PCR (Polymerase Chain Reaction). A pesar de que los microsatélites poseen altas tasas de mutación, las regiones específicas están más conservadas y se emplean para la amplificación específica de los alelos de cada locus <sup>(24)</sup>.

Entre los principales sistemas de identificación humana en el mundo se encuentran el sistema de índice combinado de ADN (CODIS, del inglés combined DNA index system) del FBI (del inglés Federal Bureau of Investigation) de los Estados Unidos, en el que se incluyen 13 repeticiones cortas en tándem y el gen de la amelogenina <sup>(24)</sup>.

El conjunto de normas europeas de loci (ESS, del inglés European standard set of loci) que incluye 12 marcadores, siete de ellos en común con el CODIS; el sistema de unidades de loci de Inglaterra, que utiliza multiplex de segunda generación conocida como SGM <sup>(25)</sup>, que incluye 10 marcadores genéticos, ocho de ellos compartidos con el CODIS, y el gen de la amelogenina; la Organización Internacional de Policía Criminal (Interpol), dice que para la identificación humana el uso de siete de los 13 loci incluidos en el CODIS y el gen de la amelogenina <sup>(26)</sup>.

Las regiones altamente variables o sujetas a una gran cantidad de cambios que se utilizan actualmente para identificación humana son secuencias cortas repetidas en tándem o STR (Short Tandem Repeats). Las secuencias utilizadas vienen de unidades que contienen cada una 4 a 5 pares de bases nucleotídicas (por ejemplo, ACAG) y lo que varía es el número de veces que estas unidades se repiten en cada individuo <sup>(26)</sup>.

**Tabla 1. Categoría para marcadores de STR**

<b>Categoría</b>	<b>Estructura de Repetición</b>	<b>13 Loci de Codis</b>	<b>Autor</b>
<p><b>Repeticiones Simples</b>                      Contiene unidades de tamaño y secuencia idénticos.</p>	<p>(GATA)(GATA)                      (GATA)</p>	<p>TPOX, CSF1PO,                      D5S818,                      D13S317,                      D16S539</p>	<p>(20) (21)</p>
<p><b>Repeticiones Simples con alelos sin consenso:</b> (e.g., TH01 9.3</p>	<p>(GATA)(GAT)                      (GATA)</p>	<p>TH01, D18S51,                      D7S820</p>	<p>(20)</p>
<p><b>Repeticiones Compuestas:</b>                      Abarca dos o más repeticiones simples adyacentes</p>	<p>(GATA)(GATA)                      (GACA)</p>	<p>VWA,                      FGA, D3S1358,                      D8S1179</p>	<p>(20) (21)</p>
<p><b>Repeticiones Complejas:</b>                      Contiene varios bloques de repeticiones de unidades de tamaño variables.</p>	<p>(GATA)(GACA)                      (CA)(CATA)</p>	<p>D21S11</p>	<p>(20)</p>

**Comparar mediante las revisiones bibliográficas diferentes criterios de los autores en cuanto a la secuencia genética**

**Análisis**

Se puede observar la secuenciación genética que tiene como objetivo la técnica que se realiza dentro del laboratorio para determinar la secuencia exacta de nucleótidos, o bases de una molécula de ADN. La secuencia de las bases (a la que se suele hacer referencia por la primera letra de su nombre químico: A, T, C y G) es un código que conlleva información biológica donde las células se desarrollan y cumplen con sus funciones <sup>(26)</sup>.

Establecer la secuencia de ADN es muy importante para llegar a entender la función de los genes y otras partes del genoma. En la actualidad hay varios métodos diferentes para la secuenciación del ADN, cada uno con sus características principales, y el desarrollo de otros métodos es un área activa de investigación en materia de genómica <sup>(26)</sup>.

### **Métodos para realizar una secuenciación genética**

Según Butler J. <sup>(26)</sup> hay dos métodos para realizar la secuenciación genética el enzimático de terminación de cadena también llamado de Sanger o Desoxi y el de secuenciación automática. En general ambos métodos se desarrollan en tres pasos:

1. Realizar la síntesis de nuevos fragmentos de ADN.
2. Separar los fragmentos por electroforesis.
3. Identificar los nucleótidos para determinar la secuencia <sup>(27)</sup>.

En la técnica de secuenciación automática donde interviene la fluorescencia dentro de este proceso, está la unión de los nucleótidos donde de manera general el equipo lee la muestra y va dando cada color del nucleótido mediante un rayo láser donde de forma repetitiva se siguen de manera general los mismos pasos que en el método desoxi con tres diferencias importantes: primero el marcador empleado es fluorescente, segundo la detección del tipo y posición de cada nucleótido se realiza simultáneamente en un sólo carril y tercero se emplea una computadora que se programa para analizar la secuencia, de manera que la secuenciación se realiza en menor tiempo, con mayor eficiencia y puede ser almacenada en forma digital <sup>(28)</sup>.

En la clasificación de las secuencias genéticas el genoma humano está compuesto estructuralmente por 3000 megabases las secuencias de bases codifican el ARN y posee un número de segmentos con más codificaciones que constituyen alrededor del 90% que son el total <sup>(29)</sup>.

### **Tipo de secuencia de acuerdo con el grado de repetición**

Se clasifica en alto grado de repetición, moderado alto grado de repetición y repetición única <sup>(30)</sup>.

### **Tipo de secuencia de acuerdo con su función**

En cuanto a su función se clasifican en codificante y no codificante y estos se pueden dividir en codificantes propios del cuerpo como organismo humano (ARN, proteínas propias) y elementos accesorios o ajenos al organismo<sup>(31)</sup>. Las secuencias no codificantes pueden ser estructurales, regulatorias o de función desconocida.

### **Discusión**

Según Panduro A. los números de alelos es una de dos o más versiones de una secuencia de ADN (una base única o un segmento de bases) En un lugar en donde se encuentre el genoma. Está comprobado científicamente que las personas heredan dos alelos, uno de cada progenitor, es decir uno paterno y uno materno en cualquier lugar en donde este el genoma que haya altamente modificaciones. Si los dos alelos son iguales, la persona es homocigota para ese alelo. Si los alelos son diferentes, la persona es heterocigota<sup>(32)</sup>.

Los cromosomas están formados por ADN lo cual tiene cada parte muchos genes, estos se encuentran en una secuencia propia ya que no pueden cambiar y cada gen tiene su propia ubicación esto se utiliza mucho ya que nos facilita dentro del sistema locus, el ADN y los cromosomas tiene más de un componente que ayudan a las similitudes e interviene en otros procesos de funcionamiento de los genes<sup>(33)</sup>.

**Tabla 2. Clasificación de secuencias genéticas por número de alelos y cromosomas**

<b>Nombre de STR</b>	<b>Cromosoma</b>	<b>N de alelos</b>	<b>Autor</b>
TPOX	2	10	(34)
D2S1338*	2	22	(27)
D3S1358	3	20	(35)
FGA	4	69	(20)
CSF1PO	5	15	(30)
D5S818	5	10	(20)
D7S820	7	22	(32)
D8S1179	8	13	(28)
THO1	11	20	(30)
VWA	12	28	(32)
D13S317	13	14	(28)
Penta E**	15	39	(32)
D16S539	16	10	(28)
D18S51	18	43	(21)
D19S433*	19	30	(35) (28)
D21S11	21	70	(28)
PENTA D**	21	39	(35)

### **Pruebas que determinan paternidad**

Von Dugherh y Hirschfeld realizo el estudio de la herencia del sistema ABO donde se estableció que Los grupos sanguíneos A y B no pueden aparecer en un niño, a menos que estén presentes en la sangre de uno de los dos progenitores. Y que los grupos sanguíneos A y B no pueden aparecer en un niño, a menos que estén presentes en la sangre de uno de los dos progenitores <sup>(36)</sup>.

La utilidad de la determinación de paternidad mediante la comparación de los grupos sanguíneos del presunto padre la madre y el niño se daba principalmente en los casos donde salía una prueba negativa para determinación de paternidad.

En estos casos la probabilidad de paternidad era totalmente excluida. Sin embargo, en muchas personas había muchas modificaciones en diferentes tipos de grupos sanguíneos hacía que en la mayoría de los casos sólo se concluyera "que el hombre probablemente pudiese ser el padre biológico del niño". Sin embargo, mientras más común era el tipo sanguíneo del presunto padre, menor era su probabilidad de resolver la paternidad <sup>(37)</sup>.

El sistema sanguíneo ABO se presentó en un total de 500 personas presenta un predominio del alelo O con 62,3%, seguido del alelo A con 21% y el B con 16,2%. El alelo A se encuentra con altas frecuencia entre un grupo de personas europeas y australianas ya que es muy poco frecuente; La presencia del alelo A y del B en los distintos grupos estudiados tiene mucho que ver con los grupos propios <sup>(38)</sup>.

El alelo B muestra frecuencias altas en regiones de Asia Central y el norte de la India, bajas frecuencias en Egipto y en la mayor parte de África Occidental. En Europa tiende a bajar la posesión del alelo hacia el Mediterráneo; entre los vascos se halla la menor frecuencia. Entre los indígenas americanos y australianos casi no existe. En poblaciones indígenas colombianas el alelo O se encuentra en el 100% de la población; por lo tanto, el hallazgo del alelo A y del B es indicativo de mezcla étnica <sup>(39)</sup>.

Los estudios realizados por Emilio Yunis Turbay muestran que el sistema sanguíneo ABO guarda la misma relación en la población colombiana que la encontrada en aquellos en donde el alelo O es predominantemente lo que legaliza el pasado indígena de Colombia, Es muy claro darse cuenta de que en diferentes zonas especialmente al sur de la región andina, en el departamento del Cauca con una frecuencia de 80.5%, Nariño 82,35%, Putumayo 8,3%. La frecuencia del alelo B se correlaciona con la frecuencia de las poblaciones de referencia, mayores en las áreas de mayor predominio negro, en la región Pacífica, Chocó con 14,46% y San Andrés islas, con 14,41%. El alelo A denota las mayores frecuencias en los departamentos de Antioquia con 19,75% y en Santander con 17,46% <sup>(36)</sup>.

### **Sistema HLA**

El sistema HLA (Human Leukocyte Antigen: Antígeno Leucocitario Humano) dado a conocer por primera vez por personas que laboraban dentro de los bancos de sangre, al observar que algunos individuos a quienes se les transfundía sangre ABO y Rh

compatible, mostraban reacciones similitud con las personas a las cuales se les transfundía sangre no compatible <sup>(40)</sup>.

El mismo resultado se obtenía con mujeres que habían dado a luz más de una vez a las cuales se les transfundía sangre. Al analizar el suero de estas personas se encontró que tenían anticuerpos dirigidos contra los antígenos de los donantes de sangre, y que estos anticuerpos aglutinaban a los leucocitos (glóbulos blancos), de allí su nombre de sistema HLA <sup>(40)</sup>.

El sistema HLA es un grupo de genes ligados que se encuentran el brazo corto del cromosoma 6, en la región 6p21.31-6p21.33. Este sistema codifica a todas las proteínas que están involucradas en este proceso, en el reconocimiento de lo propio y de lo extraño, características que le permiten intervenir en la regulación de la respuesta a trasplantes y a agentes infecciosos <sup>(41)</sup>.

Yunis Turbay realizó un estudio comparativo donde analizó 1 658 casos de paternidad entre 2006-2015, por el sistema HLA, casos que habían sido estudiados con anterioridad para grupos y subgrupos sanguíneos. Se logró demostrar la exclusión de la paternidad en 226 de estos casos (13,63%). Un análisis más detallado de los resultados obtenidos mostró que la tipificación HLA-DRB excluía un mayor número de casos que el HLA-DQB1 y éste excluía más casos que el HLA-DQA1 (HLA-DRB: 98.5%, HLA-DQB1: 86.7% y HLA-DQA1: 84.55%) <sup>(27)</sup>.

Los resultados dieron a conocer que en la investigación estaban grupos y subgrupos que analizan la sangre y el HLA-DQA1, un 14% de los casos que debían excluirse, en comparación con el HAL-DRB, darían una inclusión de paternidad. Esto llevó a que no se recomendara la instalación del sistema HLA-DQA1 dentro del esquema de análisis dado, por el alcance mucho mayor de la tipificación del HLA-DRB <sup>(35)</sup>.

### **Análisis**

La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de la biología molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis. Su objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una sola copia de ese fragmento original <sup>(42)</sup>.

Budowle realizó un estudio donde se analizaron 445 individuos consultantes por casos de paternidad, procedentes de 153 consultas realizadas por Tribunales de Menores y del Crimen de Chile, los cuales provenían, en su mayoría, de juicios por filiación y un reducido número por delitos de violación <sup>(43)</sup>.

Preparación de las muestras. Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción venosa en la Unidad de Sexología Forense del Servicio Médico Legal de Santiago. La extracción de DNA se llevó a cabo utilizando el método orgánico descrito por Budowle <sup>(42)</sup>.

El DNA fue realizado para su determinación por el método de electroforesis en gel de agarosa al 1%, teñidos con bromuro de etidio, utilizando como estándar cantidades conocidas de DNA de la línea celular K562 <sup>(44)</sup>.

Tipificación de polimorfismo en el locus D1S80. La tipificación de DNA del locus D1S80 fue realizada mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para ello utilizamos un programa de amplificación descrita por Kasai y cols. <sup>(44)</sup>.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador Perkin-Elmer 9600, utilizando entre 5 a 20 ng de DNA genómico como templado. Para determinar los fragmentos de DNA amplificados se utilizó electroforesis en geles de poliacrilamida verticales de 0,4 mm de grosor y los alelos fueron detectados utilizando tinción de plata <sup>(45)</sup>.

## **Discusión**

Se estudiaron un total de 153 casos de paternidades correspondientes a consultas realizadas por los tribunales de justicia. La muestra los valores de probabilidad de cada marcador y la probabilidad de exclusión a priori acumulativa, al utilizar los cuatro marcadores en conjunto, basados en las frecuencias génicas obtenidas de una población de Santiago son una respuesta de las varias técnicas y métodos obtenidos <sup>(46)</sup>.

Con el resultado de que el locus D18S849 tiene una menor parte para determinar el locus (0,588), a pesar de contar con 12 alelos detectados en la población analizada. Por otra parte, el locus D12S1090 presenta el mayor valor individual (0,855), siendo razonablemente representado por e la mayor cantidad de modificaciones dentro del grupo, contando con 25 alelos detectados en la población de Santiago. Al graficar la probabilidad

de exclusión acumulativa puede observarse que el valor va aumentando a medida que se van agregando marcadores, alcanzando en su conjunto un poder de exclusión de 0,993 en todo el estudio realizado<sup>(47)</sup>.

## **HIBRIDACIÓN**

Array CGH<sup>(48)</sup>, da a conocer que la hibridación es un método muy utilizado en el área de citogenética molecular, el cual sirve para determinar las variaciones en el número de copias en relación con el nivel de ploidía del ADN de una muestra en comparación con una muestra de guía, para esto no existe la necesidad de realizar un cultivo celular<sup>(48)</sup>.

Rodríguez realizó una técnica donde interviene oligonucleótidos marcadas con fluorocromos las cuales van dirigidas hacia secuencias específicas del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr), lo que permite la identificación rápida y específica de células microbianas ya sea que estén como células individuales o se encuentren agrupadas en función de los pares de bases<sup>(49)</sup>.

La composición de los microorganismos en los diferentes hábitats de las personas proporciona un soporte de cómo a lo largo del tiempo esto ha ido cambiando y con ella su funcionamiento<sup>(50)</sup>. El objetivo de la revisión es presentar la forma como ha ido cambiando la técnica de la hibridación, el empleo del ARNr como molécula diana, los tipos de marcaje, los marcadores fluorescentes empleados hoy en día. La metodología ha ido evolucionando para mejorar en cuanto a tiempo y eficacia en los resultados, así como las mejoras que se le han hecho a la técnica FISH al emplearse en conjunto con otras técnicas en la identificación microbiana<sup>(50)</sup>.

Algunos autores señalan que la hibridación se basa en la unión de dos cadenas sencillas de ácidos nucleicos que da origen a estructuras de doble hebra, las cuales pueden ser híbridos ADN-ADN, ARN-ARN (ambos homoduplex) o ADNARN (heteroduplex). El apareamiento se da por la complementariedad de bases a través de los puentes de hidrógeno que se forman entre adenina-timina (ADN) o uracilo (ARN) y citosina-guanina (ADN y ARN). Lo cual es importante ya que los ácidos nucleicos de partida son de cadena sencilla, pueden proceder de ADN replicado y fragmentado por enzimas de restricción, o mediante oligonucleótidos sintéticos<sup>(51)</sup>. La hibridación se puede realizar

en una técnica de mediante líquido en un medio e sólido, como nitrocelulosa, al que se encuentra unida una de las dos poblaciones de ácidos nucleicos <sup>(50)</sup>.

En un estudio dado por Blot. <sup>(52)</sup> Definen a 15 personas en un tiempo de 35 días para el estudio de paternidad o dado el caso de maternidad en donde con su ADN se procedió a realizar la técnica de hibridación *in situ*, las técnicas de hibridación se utilizan a menudo para detectar una molécula diana partiendo de una sonda que es muy importante que esté ligado hacia la molécula Diana <sup>(50)</sup>.

Estas fueron las bases principales para obtener técnicas principales como la hibridación, entre ellas la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) como resultado a comparación de una electroforesis capilar se tuvo el 99.993 de resultados positivos en cuanto a técnica y tiempo <sup>(52)</sup>.

## **ELECTROFORESIS CAPILAR**

### **Análisis**

Según Reuss, es una de las técnicas más actuales, refiere que es está en la rama de la genética especialmente en secuencias genéticas pero que está poco a poco sustituyendo a los sistemas de electroforesis. En este caso el proceso electroforético es llevado a cabo en un capilar de silica de unos 50 mm de diámetro, lo cual hace que la cantidad de calor generado sea menor y que puedan aplicarse voltajes mayores <sup>(53)</sup>.

Para que puedan ser analizados por electroforesis capilar los primers o los dideoxinucleótidos (en el caso de la secuenciación) deben ser marcados fluorescentemente con unas moléculas denominadas fluorocromos que emiten fluorescencia <sup>(53)</sup>.

El equipo en el que se realiza el proceso lleva ligado a un ordenador que este es el encargado de recolectar toda la información de los datos que emiten las secuencias que están ya analizadas con fluorocromos en secuencias o fragmentos con sus correspondientes alelos asignados. La electroforesis tiene muchas en cuanto a la electroforesis vertical como son:

**Rapidez:** Permite el análisis simultáneo de varios loci aunque estos posean alelos con tamaños solapantes <sup>(53)</sup>.

**Sensibilidad:** Hace posible detectar cantidades de ADN pequeñas <sup>(53)</sup>.

Los resultados se obtienen de manera rápida, lo que evita problemas de interpretación de estos y facilita el análisis de los mismos a través de programas informáticos <sup>(53)</sup>. La electroforesis nos permite nacer con un código genético único e híbrido transmitido de los padres a los hijos, ya que 50% de nuestra información genética proviene de nuestra madre (25% abuela materna y 25% abuelo materno), mientras que el otro 50% proviene del padre (25% abuela paterna y 25% abuelo paterno) <sup>(54)</sup>.

El ADN se detecta con alta cantidad de loci, y con las cadenas repetitivas de ADN no codificante junto con la falta de alcance funcional de sus alteraciones (que permite que se perpetúe libremente en sucesivas generaciones), hace que este material altamente variable sea el que más varíe entre los individuos y por ello decimos que este está fuera del alcance del perfil genético individual <sup>(55)</sup>.

## **Discusión**

Este tipo de técnica permite detectar paternidad de una persona entre miles de personas siempre y cuando se obtenga las muestras adecuadas en caso de los gemelos idénticos, no hay nadie genéticamente igual con una confiabilidad de 99,99%. Por lo anterior, el perfil genético constituye la mejor técnica de determinación de paternidad humana, siendo el único método aceptado legalmente <sup>(55)</sup>.

Algunos autores indican que una vez obtenido los perfiles (en Ampligen les llamamos los DIG documentos de identidad genética) realizaremos una comparación de los ADN obtenidos para determinar la relación entre un supuesto padre y un hijo en disputa. Se pueden tener dos resultados posibles al comparar sus perfiles: que en al menos dos marcadores no exista ninguna coincidencia entre los alelos/genotipos del supuesto padre e hijo, lo que llamamos exclusión, es decir que estamos descartando la paternidad biológica <sup>(56)</sup>.

En una población pueden existir varios alelos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, etc. El par de alelos o genotipo de una persona para cada marcador STR. <sup>(56)</sup>. Ninguna persona es

genéticamente igual así sea hermanos gemelos por eso esta técnica permite diferenciarlo o establecer su relación con otras personas. Cuando los dos alelos de un marcador son diferentes se dice que su genotipo es heterocigoto. Cuando las repeticiones son las mismas en ambos alelos se dice que su genotipo es homocigoto para el STR en cuestión <sup>(56)</sup>.

Un hombre y una mujer que sean heterocigotos para un marcador determinado, podrían transmitir a su hijo cuatro combinaciones diferentes, esta circunstancia nos permite diferenciar entre personas que estén relacionadas por medio de amplificación. <sup>(56)</sup> Un perfil de ADN, también para electroforesis capilar se genera obteniendo los genotipos de varios STR, lo que da lugar a un código que de manera que ya se analizado como resultado da que es irrepitible que nunca van a hacer igual (9/9, 11/13, 16/22, 21/27) <sup>(56)</sup>.

Hay que señalar que el rango de alelos de cada STR puede ser variante, por ejemplo, para un marcador dado los alelos pueden ir del 8 al 13, mientras para otro marcador las repeticiones van del 11 al 30. <sup>(56)</sup> En este caso sí coincide el padre con el hijo en al menos un alelo en todos los marcadores analizados, lo que se interpretará como que el supuesto padre es el padre biológico del hijo y como resultado de esta prueba de paternidad es el 99.99% <sup>(56)</sup>.

**Tabla 3. Distinguir las diferentes técnicas para determinar paternidad mediante una revisión bibliográfica digital.**

<b>Técnica</b>	<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Tipo de muestra</b>	<b>Población</b>	<b>Resultados</b>
ABO	Von Dugerh , Hirschfeld	2013			Sanguínea	1658 Casos Excluidos 226	Se recomendaba realizar tipificación sanguínea para determinar paternidad en esa época con un 75% de efectividad
HLA	Emilio Yunis Turbay	2003- 2015			Sanguínea	500 Casos	No se recomendara la inclusión del sistema HLA dentro del esquema de análisis que se empleaba, por el alcance mucho mayor de la tipificación del HLA-DRB.
PCR	Budowle	2018- 2019	98,6	86,3	Sangre o saliva	153 casos	El índice de paternidad es con muy alta resolución a la frecuencia del genotipo de los presuntos padres con un 99% de un resultado positivo.
Hibridación genómica	Array CGH	2020	89	86	ADN, cabello, piel	15 pacientes	Tiene un resultado efectivo del 99% dentro de las pruebas realizadas.

Electroforesis Capilar	Alexander Reuss	2021	75,9	97,8	Sanguínea Saliva Líquido amniótico	Los resultados se obtienen de manera informatizada, lo que evita problemas de interpretación de los resultados y facilita el análisis de los mismos a través de programas informáticos
---------------------------	--------------------	------	------	------	---	--

## **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES**

La determinación de paternidad hoy en día es un problema a nivel mundial ya que afecta a la mayoría de la población generalmente, en la muestra de estudio realizado se pudo evidenciar la prevalencia de un 78% de personas que tienen problemas de paternidad a nivel de nuestro país, es decir que más de la mitad de la población no están reconocidos por un padre o en el caso extremo de una madre. En estos casos la mayoría de las personas que no tienen acceso a una prueba de paternidad es por su nivel económico ya que hace tiempo atrás era muy difícil tener acceso a este tipo de pruebas, pero en la actualidad la fiscalía general del Ecuador tiene convenios con varios laboratorios para que la población necesitada pueda tener acceso gratuito a estos exámenes.

Según la revisión bibliográfica realizada varias técnicas que proporcionan determinar paternidad como es el Sistema ABO que fue uno de los primeros en evidenciar información con un 75% de posibilidad de parentesco. Además, este sistema ayuda en el método de tipificación sanguínea. De igual manera se observó que el criterio más utilizado para evaluar una paternidad fue la del sistema HLA pero tampoco fue un método con una buena efectividad.

A medida que se desarrolla la ciencia, también han evolucionado las técnicas genéticas para la identificación de paternidad, hasta llegar a las secuencias y marcadores genéticos. Esto ayuda a la introducción de nuevas técnicas como la PCR, Hibridación y Electroforesis Capilar, las cuales ya no se trabajan sólo con una muestra sanguínea sino también con tejido, líquido amniótico en caso de que se realice la prueba cuando la madre este en gestación, saliva y cabello que son las principales.

Las pruebas de PCR, Hibridación y Electroforesis, todas trabajan bajo secuencias y marcadores genéticos, pero aun así podemos evaluar las secuencias genéticas ya que en la división del ADN se van formando las pares de bases y con ello los marcadores genéticos. En gran parte de los artículos muestra que actualmente la prueba más utilizada para determinación de paternidad es la PCR ya que no se demora en obtener resultados y tiene una alta especificidad y sensibilidad con un 99,99% de veracidad en los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. KORNBLIHTT A. La humanidad del genoma. Organizacion Panamericana de la salud. 2015 Jun; 2(2).
2. PURROY J. La era del genoma. Salvat ciencia. 2012 May; 2.
3. SULSTON J FG. El hilo común de la humanidad. Salvat ciencia. 2013 Sep; 3.
4. WATSON JD, BAKER T, BELL S, GANN A, LEVINE M, LOSICK R. Biología molecular del gen Madrid : Médica Panamericana; 2016.
5. CHIERI PZEA. Una caracterización directa de la mutación humana basada en microsatélites. National Library of Medicine Pudmed. 2012 Aug; 44(10).
6. Pacheco-Orozco RA, Gómez AM, Perdomo S. Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica. Univ. Med.. 2020 Jun; 61(2).
7. Zavaleta-Espejo G SJJCWLCC. Frecuencia fenotípica de grupos sanguíneos ABO y Factor Rh (D). Revista mèdica de trujillo. 2020 May; 15(2).
8. Romeo Casabona CM. Law and the Human Genome Review. Deusto. 2014 Jun; 1.
9. R. Lu NFNSRQaILW. "Tracking single hematopoietic stem cells in vivo using high-throughput sequencing in conjunction with viral genetic". Nature Biotechnology. 2011; 29(10).
10. Pita M, Ras D. El ADN dictador la genética decide por ti. Revista internacional de filosofía. 2021; 40(3).
11. Picó Sirvent MB. Marcadores moleculares basados en PCR: Marcadores SSR o STR. [Online].; 2015 [cited 2022 03 13. Available from: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16743/SSR.pdf.pdf?sequence=1>.
12. Maritza Angarita Merchán MITCAKDT. Molecular Biology Techniques for research development. haban cienc méd. 2017 Oct; 16(5).
13. Pita M. Hibridación genómica comparativa-completa. Dialnet. 2017; 30(2).
14. Rincón Sandoval CM. Modelo de evaluación para resolver problemas de filogenia molecular basado en los análisis de microsecuencias de ADN de multilocus conservados Bogotá : Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá Facultad de Ciencias.; 2014.
15. Sandra P. Moreno-Valencia Bact1 CRPM. Pruebas de paternidad mediante ADN. Medicina y Laboratorio. 2014; 20(9-10).

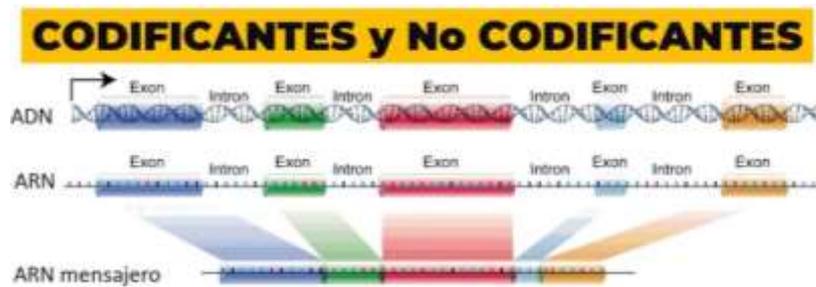
16. Madrigal L, González José R. Introducción a la Antropología Biológica. Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica ed. Sánchez MQ, editor. Argentina ; 2016.
17. Varsi Rospigliosi E. Determinación de la filiación en la procreación asistida. IUS [online]. 2017; 11(39).
18. MB C. Evolucion historica de la evolucion de paternidad. Pudmed. 2019 Mar; 3(15).
19. Butler JM BECFBR. Forensic DNA typing by capillary. Scielo. 2014 Aug; 01.
20. Luz S DSYG. Análisis de marcadores STR. Redalyc. 2012 Jun; 51(03): p. 4.
21. Herráez A. Biología molecular e ingeniería genética. Elsevier. 2012 Aug;: p. 317.
22. Edwards A HAJLCC. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups.. Scielo. 2021.
23. Mullis KB FFGR. Reaccion de Polimerasa. Scielo. 2018 May; 7(2).
24. Moretti TR BAD. Validation of short tandem repeats (STRs) for forensic usage: performance testing of fluorecent. [Online].; 2021 [cited 26 03 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8635824/>.
25. R. CRFJLG. Validation of the AMPFISTR SGM Plus system for use in forensic casework. Elsevier Forensic Science International. 2011 Aug; 112.
26. alleyne L. Interpol Handbook on data exchange and practie. In marzooq Aa. Recommendations from the Interpol DNA monitoring expert group. France: Werner Schuller & Richard Scheithauer; 2018. p. 39.
27. J. B. Pruebas de paternidad mediante DNA Biologia y tecnologia. Redalyc. 2022 Jun; 1.
28. Alberto C. Genetica Analisis de Pternidad utilizando marcadores geneticos. Lilacs. 2017 Aug; 6.
29. Villalobos. Rangel. Contexto Pruebas de ADN y estandares basicos para los laboratorios en pruebas de paternidad. Revista Ciencias Forenses. 2018 Mar; 2(1).
30. Mayek Pérez N. Genoma Humano. Actualidades y perspectivas dentro de las pruebas para determinacion de paternidad por ADN. Elsevier. 2015 Dec; 13(33).
31. Sagrera JED. La secuencia del genoma humano y el impacto sobre los estudios realizados en paternidad. Elsevier. 2013 Oct; 22(9).
32. Antonella. P. Biologia Molecular en la clínica y codigos del genoma humano y los avances dentro de la paternidad en diferentes pruebas de laboratorio. Lilacs. 2014 Sep; 3(2).

33. Eduardo Esparza-García IACCJCHM. Cromosomas en secuencias genéticas, como llave maestra para la evolución humana. Medigraphic. 2017 Feb; 84(1).
34. Montoya WR. Descripción del posible origen de los patrones trialélicos del locus TPOX. [Online].; 2019 [cited 2022 03 15. Available from: [https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/14715/4/SalazarRichard\\_2020\\_PatronTrial%C3%A9licoTPOX.pdf](https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/14715/4/SalazarRichard_2020_PatronTrial%C3%A9licoTPOX.pdf).
35. Europea CdlU. Council Resolution. [Online].; 2014 [cited 2022 03 26. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32009G1205%2801%29. C>.
36. Hirschfeld VDy. Tipificación sanguínea y reglamentos para el uso del material genético humano en Ecuador. Scopus. 2017 Aug; 1(1).
37. Fonseca C. Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la población laboral del valle de Aburrá. Scielo. 2016 Mar; 31(1).
38. Lancheros AM. Aspectos en grupos sanguíneos y su relación con las secuencias genéticas. Pubmed. 2019 Nov; 5(1).
39. Ramirez SA. Alelos casos clínicos y formas alternativas de ADN en cromosomas. Scopus. 2017 Mar; 4(2).
40. Rodríguez M. Frecuencia de sistema de grupos sanguíneos ABO,RH en pruebas biológicas de paternidad y su evolución. Revista Científica Forense. 2020 Jan; 3(1).
41. Rios EDL. Análisis del sistema HLA en herencia de algunos tipos de grupos sanguíneos y compatibilidad de grupos. Scielo. 2015; 1(1).
42. Gloria Barrera MJJCPC. PCR en tiempo real y cadenas de polimerasa para la identificación de paternidad. Scielo. 2016 May; 18(2).
43. Nataly Garcíaa MMPVA. Evaluación de paternidad, susceptibilidad y otras individualidades por medio del PCR. Pubmed. 2017 Apr; 36(1).
44. Tamay de Dios L IC. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real Press H, editor. Madrid: Nicola King; 2016.
45. John Kaisermann PM. Técnicas de la biología molecular Books CS, editor. Argentina; 2020.
46. A.Almécija Muñoz ACBCMdPMIGT. Secuencias de ADN. Scopus. 2015 Nov; 1.
47. Jose O. Pcr investigación genómica. Scopus. 2019 Jan; 34(4).
48. Mejia R. Hibridación genómica de nueva generación para determinación de paternidad. Revista Científica Forense. 2021; 1.

49. Martínez RR. Empleo de la técnica hibridación en prenatales para determinacion de paternidad. Rev. Univ. Ind. Santander. Salud Scielo. 2013 Nov; 43(3).
50. Moter A GU. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct. Scielo. 2020 May; 85(41).
51. Pardue ML GJ. Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA. Scielo. 2018 Jul; 47(3).
52. Luque J yHÁ. Biología Molecular e Ingeniería Genética. Pudmed. 2014; 37(2).
53. Entrarla C. Tecnicas de analisis de ADN. Revista Cientifica Forense. 2020 Sep; 7.
54. Medina RG. Electroforesis capilar. Pudmed. 2014; 7(3).
55. Magaña JJ. Electroforesis Capilar en Forense. Pudmed. 2018 Jun; 5(1).
56. Carrillo JG CMC. Electroforesis capilar para el análisis de secuencias. Scielo. 2019 Jul; 43(7): p. 5.
57. L. Castaño JRBIU. Tecnicas de biologia molecular en fregmentos de ADN. Pudmed. 2017; 4(1).

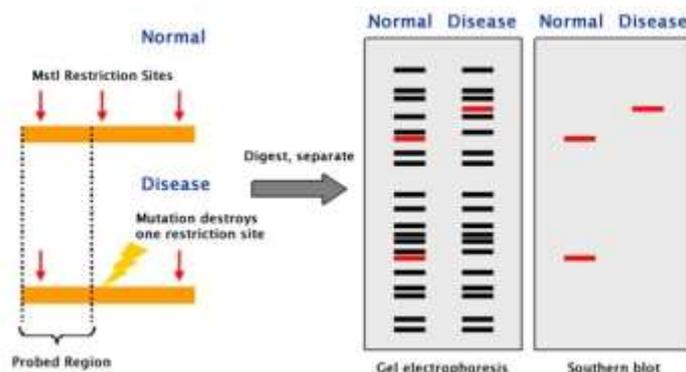
# **ANEXOS**

## Anexo 1: ADN codificante y no codificante



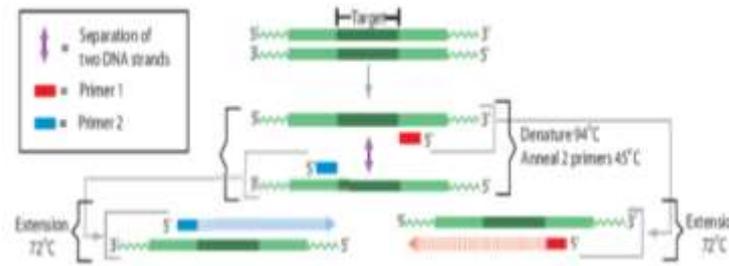
**Fuente:** Pacheco-Orozco RA, Gómez AM, Perdomo S. Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica. Univ. Med.. 2020 Jun; 61

## Anexo 2: RFLP (restricción de fragmentos de longitud polimórfica)



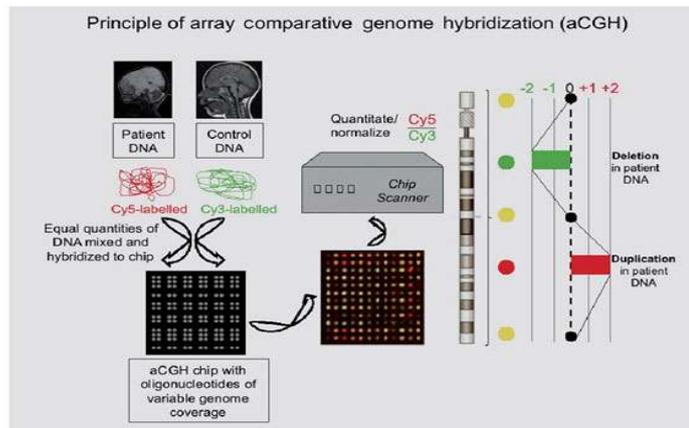
**Fuente:** Rincón Sandoval CM. Modelo de evaluación para resolver problemas de filogenia molecular basado en los análisis de microsecuencias de ADN de multilocus conservados Bogotá : Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá Facultad de Ciencias.; 2014.

### Anexo 3: PCR



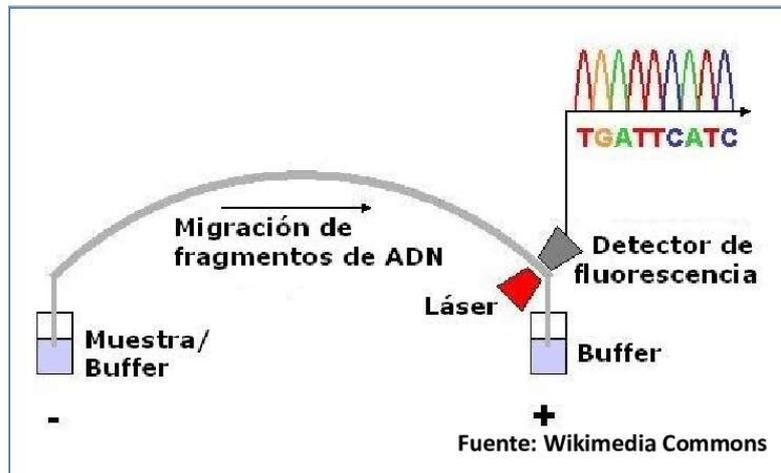
**Fuente:** Picó Sirvent MB. Marcadores moleculares basados en PCR: Marcadores SSR o STR. [Online].; 2015 [cited 2022 03 13. Available from: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16743/SSR.pdf.pdf?sequence=1>

### Anexo 4: Hibridación



**Fuente:** Entrarla C. Tecnicas de analisis de ADN. Revista Cientifica Forense. 2020 Sep; 7

### Anexo 5: Electroforesis capilar (EC)



**Fuente:** Entrarla C. Tecnicas de analisis de ADN. Revista Cientifica Forense. 2020 Sep; 7

**Anexo 6: artículos seleccionados**

<b>Nº</b>	<b>Año</b>	<b>Base de datos</b>	<b>Autor</b>	<b>Título en inglés</b>	<b>Título en español</b>
1	2012	Redalyc	Luz Santander	Analysis of STR markers	Análisis de marcadores STR
2	2012	Elsevier	Herráez Andrés	Molecular biology and genetic engineering	Biología molecular e ingeniería genética
3	2021	Scielo	Edwards Antonio, Hernández José,	Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups	Variación genética en cinco locus de repetición en tándem triméricos y tetraméricos en cuatro grupos de población humana
4	2018	Scielo	Mullis KB	polymerase reaction	Reacción de polimerasa
5	2021	Revista científica forense	Moretti Trarquin , Bad Bowler	Validation of short tandem repeats (STRs) for forensic	Validación de repeticiones cortas en tándem (STR) para análisis forense
6	2011	Scielo	Carlos Rodriguez Fajardo,	Validation of the AMPFISTR SGM Plus system for use in forensic casework	Validación del sistema AMPFISTR SGM Plus para uso en casos forenses
7	2018	Pudmed	Alleyne Lowens Werner Schuller, Richard Scheithauer	Recommendations from the Interpol DNA monitoring expert group	Recomendaciones del grupo de expertos en monitoreo de ADN de Interpol
8	2022	Pudmed	Jorge Basconez	DNA Biology and technology.	DNA Biología y tecnología.

9	2017	Revista de ciencias Forenses	Angle Caminos	Genetics in forensic paternity and different tests	Genética en forense paternidad y diferentes pruebas
10	2018	Revista de ciencias forenses	Villalobos Rangel	DNA testing context	Contexto de pruebas de ADN
11	2015	Lilacs	Mayek Pérez N.	Human genome	Genoma Humano
12	2013	Elsevier	Sagrera JED	The sequence of the human genome	La secuencia del genoma humano
13	2014	Lilacs	Adolfo.Pesantes	Molecular biology in the clinic	Biología Molecular en la clínica
14	2017	Medigraphic	Eduardo Esparza García	Chromosomes in Genetic Sequences	Cromosomas en secuencias genéticas
15	2019	Pudmed	Montoya, WR.	Description of the possible origin of the triallelic patterns of the TPOX locus	Descripción del posible origen de los patrones trialélicos del locus TPOX
16	2017	Scopus	Hirschfeld, VDy,	blood typing	Tipificación Sanguínea
17	2016	Scielo	Fonseca, C.	Frequency of ABO and Rh blood groups in the working population of the Aburrá Valley	Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la población laboral del valle de Aburrá
18	2019	Pudmed	Lancheros, AM.	Blood groups and their relationship with genetic sequences	Grupos sanguíneos y su relación con las secuencias genéticas
19	2017	Scopus	Ramirez, SA.	alleles clinical cases	Alelos casos clinicos

20	2021	Revista Científica Forense	Rodríguez, .M	Frequency of blood groups ABO,RH	Frecuencia de grupos sanguíneos ABO,RH
21	2015	Scielo	Rios, Edelmiro	HLA system analysis	Analisis del sistema HLA
22	2016	Scielo	Gloria Barrera,JMJCP.	Real time PCR	PCR en tiempo real
23	2017	Pudmed	Nataly Garcíaa, MMPVA	PCR evaluation	Evaluacion del PCR
24	2016	Libro	Tamay de Dios	Fundamentals of the polymerase chain reaction (PCR) and PCR in time	Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo
25	2020	Libro	John Kaisermann PM	Molecular biology techniques	Tecnicas de la biología molecular
26	2015	Scopus	A.Almécija Muñoz	DNA sequences	Secuencias de ADN
27	2019	Revista de ciencias forenses	Ortiz, Jose.	Pcr genomic research	Pcr investigacion genómica
28	2021	Revista de ciencias forenses	Mejia R.	Genomic hybridization	Hibridacion genómica
29	2013	Scielo	Martínez RR	Use of the hybridization technique	Empleo de la técnica hibridación
30	2020	Pudmed	Moter A GU.	Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct	Hibridación fluorescente in situ (FISH) para

31	2018	Pudmed	Pardue ML GJ.	Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA	Hibridación molecular de ADN radiactivo al ADN.
32	2014	Pudmed	Luque J yHÁ	Molecular biology and genetic engineering.	Biología Molecular e Ingeniería Genética.
33	2020	Revista de ciencias forenses	Entrarla C.	DNA analysis techniques	Tecnicas de analisis de ADN
34	2014	Pudmed	Medina RG	Capillary Electrophoresis	Electroforesis Capilar
35	2018	Pudmed	Magaña JJ.	Capillary electrophoresis techniques throughout the forensic field	Técnicas de electroforesis capilar en todo el ámbito forense
36	2019	Revista de ciencias forenses	Carrillo JG	Capillary electrophoresis for sequence analysis	Electroforesis capilar para el análisis de secuencias
37	2017	Revista de ciencias forenses	L. Castaño	Molecular biology techniques in DNA fragments	Tecnicas de biologia molecular en fregmentos de ADN

### **Anexo 7: Protocolo de análisis de paternidad**

1. Presentar original y fotocopia del documento de identidad de presunto padre y de la madre.
2. Se debe registrar la huella digital y la firma de los presuntos padres en el "consentimiento informado", en donde este consta la autorización para realizar la toma de muestra que se va a utilizar en la prueba de paternidad.
3. A los presuntos padres y al hijo o hija en cuestión se les tomará una fotografía en forma digital como evidencia de que asistieron a realizarse la prueba de paternidad.

4. A continuación se toma la muestra (sangre o mucosa bucal) en caso de que sea por PCR o electroforesis en Tarjeta FTA por punción capilar con Lanceta o cito cepillo a cada uno de la familia en cuestión.

5. La tarjeta debe ser etiquetada con los nombres y apellidos completos, seguido de la condición filial de cada uno de los miembros que se realizaron la prueba.

6. Para trasladar las muestras se lleva en (“cadena de custodia”) en la que cada persona por familia recibe un código que solo tiene conocimiento la persona responsable de la custodia, quien no tiene ninguna participación en el análisis de la prueba solo del traslado de la muestra.

Los nombres, la relación paterna y el código se toman nota en el libro de custodia. <sup>(56)</sup>.

7. Posteriormente se toma un pequeño segmento de la tarjeta conteniendo una mancha con el código correspondiente a cada uno de los integrantes de la familia y la relación que concuerde <sup>(56)</sup>.

8. Las muestras pasan al laboratorio codificadas para guardar la reserva del grupo (el número de muestra se registra en el informe de resultados) <sup>(56)</sup>.

9. En los resultados interviene por escrito las columnas madre, hijo y presunto padre se anotan los alelos de cada uno de los STR identificados en el ADN de la madre, el hijo y el presunto padre y los índices de paternidad y la probabilidad ya sea del 99.999% positivo que quiere decir que si es el padre o la exclusión de una falsa paternidad con un poder superior al 99.999% <sup>(56)</sup>.