

**DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LAS SECUENCIAS DE LAS  
REGIONES HVI Y HVII DE LA REGIÓN CONTROL DEL DNA MITOCONDRIAL  
EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN CARIBE COLOMBIANA**

**GRACE ALEXANDRA TERREROS IBÁÑEZ**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
BOGOTÁ  
2010**

**DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LAS SECUENCIAS DE LAS  
REGIONES HVI Y HVII DE LA REGIÓN CONTROL DEL DNA MITOCONDRIAL  
EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN CARIBE COLOMBIANA**

**GRACE ALEXANDRA TERREROS IBÁÑEZ**

**Trabajo de Grado para Optar al Título de  
Magister en Ciencias Biológicas con Énfasis en Genética Humana**

**Director  
IGNACIO MANUEL ZARANTE MONTOYA, MD, MSc  
Profesor Asociado  
Facultad de Ciencias  
Instituto de Genética Humana**

**Codirectora  
ROCIO DEL PILAR LIZARAZO QUINTERO, Bacterióloga, MSc  
Coordinadora Grupo de Genética Humana  
Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLOGICAS  
BOGOTÁ  
2010**

**DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LAS SECUENCIAS DE LAS  
REGIONES HVI Y HVII DE LA REGIÓN CONTROL DEL DNA MITOCONDRIAL  
EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN CARIBE COLOMBIANA**

**GRACE ALEXANDRA TERREROS IBÁÑEZ**

**APROBADO**

---

**IGNACIO MANUEL ZARANTE M.**  
Director

---

**ROCIO DEL PILAR LIZARAZO Q.**  
Directora

---

**JAIME BERNAL**  
Jurado

---

**ADRIANA CASTILLO**  
Jurado

---

**CRISTINA SANCHEZ G.**  
Jurado

---

**Ingrid Schuler, Biol. PhD**  
Decana Académica  
Facultad de Ciencias

---

**Manuel Antonio Franco, MD, PhD**  
Director de Posgrado  
Facultad de Ciencias

## **DEDICATORIA**

*A mis preciosas hijitas Laura Alejandra y María Paula  
A mi adorado esposo Vidal Darío  
A la memoria de mi querida madre*

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

*“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus  
alumnos en sus tesis de grado”*

*Artículo 23 Resolución No. 13 de Julio de 1996*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, por la financiación y soporte tecnológico y logístico para el desarrollo de este proyecto. En especial a la División de Investigación Científica y al Grupo de Genética Forense.

Al doctor Ignacio Zarante, por guiar el rumbo de esta investigación, por compartir su invaluable conocimiento, por su tiempo y dedicación.

A la doctora Rocío del Pilar Lizarazo Quintero, por introducirme y acompañarme en el mundo del ADN mitocondrial, por sus enseñanzas, por su apoyo y sus valiosos comentarios.

A la doctora Martha Lucía Camargo, en su momento coordinadora del convenio entre el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses y el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.

Al doctor Miguel Arturo Velázquez Acevedo, jefe de la División de Control Forense del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, por su apoyo para que fuera posible aprobar el plan de estudios.

Al doctor Nelson R Téllez y a la doctora Liliana Támara, jefes de la División de Investigación Científica del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.

A Carlos Arturo Mora Torres, por siempre estar dispuesto a resolver mis dudas metodológicas.

A los auxiliares del Grupo de Genética.

A mis compañeros del Grupo de Genética, especialmente a Cristina, Esperanza y Patricia por sus palabras de apoyo.

A mis grandes amigas Liliana, Luisa y Nidia Mireya, por escucharme, comprenderme y apoyarme tanto en los momentos gratificantes como en los difíciles.

A mi familia, por su amor, por su paciencia, por las palabras de aliento, por soportar mis largas ausencias.

A mi madre porque sin el ejemplo que me dejó de constancia, perseverancia y esfuerzo no hubiera emprendido este proyecto.

A todos aquellos que sin estar explícitamente mencionados colaboraron de una u otra forma para lograr los objetivos propuestos.

## CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	16
<u>INTRODUCCIÓN</u>	17
1. <u>MARCO TEÓRICO</u>	19
1.1 HISTORIA DE LA GENÉTICA FORENSE	19
1.1.1 Número Variable de Repeticiones en Tandem. Variable number of tandem Repeats (VNTRs).	20
1.1.2 HLA DQA1 – POLIMARKER	21
1.1.3 Microsatélites – STRs (Short Tandem Repeats).	22
1.1.4 STRs de Cromosoma Y	23
1.1.5 ADN mitocondrial	24
1.1.6 Inicios de la Genética Forense en Colombia	26
1.2 LA MITOCONDRIA	27
1.2.1 Estructura y Función de la Mitocondria	27
1.2.2 Origen de la Mitocondria como Organelo Subcelular	28
1.2.3 Organización del Genoma Mitocondrial	29
1.2.4 Tasa de mutación – Polimorfismos	31
1.2.5 Número de copias, Herencia Materna	31
1.2.6 Heteroplasmía	32
1.3 METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL PARA USO FORENSE	34

1.4 BASES DE DATOS DE ADN MITOCONDRIAL	pág. 37
1.5 DEFINICIÓN DE HAPLOGRUPOS	38
1.6 HISTORIA DEL POBLAMIENTO AMERICANO	40
1.7 HISTORIA DEL POBLAMIENTO DE LA REGIÓN CARIBE COLOMBIANA	43
2. <a href="#">METODOLOGÍA</a>	50
2.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA	50
2.2 DETERMINACIÓN DE HAPLOTIPOS	51
2.2.1 Extracción de ADN	51
2.2.2 Amplificación de las regiones HVI y HVII	52
2.2.3 Chequeo de la Amplificación	54
2.2.4 Purificación del Producto Amplificado	54
2.2.5 Reacción de Secuencia	54
2.2.6 Purificación de las secuencias	55
2.2.7 Secuenciación Automática.	56
2.2.8 Asignación de bases y Alineamiento de las secuencias	56
2.3 ELABORACIÓN DE LA BASE DE DATOS	56
2.4 FRECUENCIAS DE HAPLOTIPOS, CAMBIOS CON RESPECTO A LA SECUENCIA DE REFERENCIA DE CAMBRIDGE, HETEROPLASMÍA	57
2.4.1 Frecuencia de Haplotipos	57
2.4.2 Tipos de Cambios	57



2.4.3 Frecuencia de heteroplasmía	pág. 57
2.5 ESTIMADORES GENÉTICO POBLACIONALES	57
2.5.1 Diversidad Génica	58
2.5.2 Promedio del Número de Diferencias Pareadas	59
2.5.3 Diversidad Nucleotídica sobre L loci	60
2.5.4 Probabilidad de coincidencia o RMP (Random Match Probability)	60
2.6 ANÁLISIS MOLECULAR DE VARIANZA (AMOVA)	61
2.7 ANALISIS GRÁFICO DE DISTANCIAS GENÉTICAS	61
2.8 CLASIFICACIÓN DE LAS SECUENCIAS EN HAPLOGRUPOS	61
3. <a href="#"><u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</u></a>	64
3.1 DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA	64
3.1.1 Por departamentos de la región	64
3.1.2 Por sexo	65
3.1.3 Por Grupo etario	65
3.1.4 Por lugar de nacimiento	65
3.2 CHEQUEO DE LA AMPLIFICACIÓN	66
3.3 FRECUENCIA DE LOS HAPLOTIPOS	67
3.4 TIPOS DE CAMBIOS CON RESPECTO A LA SECUENCIA DE REFERENCIA DE CAMBRIDGE OBSERVADOS	71
3.5 HETEROPLASMIA	78
3.6 ESTIMADORES GENÉTICO POBLACIONALES	82
3.6.1 Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) entre departamentos	86

	pág.
3.6.2 Análisis Gráfico de Distancias Genéticas	86
3.7 CLASIFICACIÓN DE LAS SECUENCIAS EN HAPLOGRUPOS	88
3.7.1 Distribución de Haplogrupos por departamentos	95
4. <a href="#">CONCLUSIONES</a>	100
5. <a href="#">RECOMENDACIONES</a>	101
<a href="#">BIBLIOGRAFIA</a>	102
ANEXOS	115

## LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. STRs nucleares más empleados en genética forense	23
Tabla 2. Ejemplo del análisis de dos muestras por ADN mitocondrial	36
Tabla 3. Distribución Continental de Haplogrupos	39
Tabla 4. Etnias presentes en la Región Caribe Colombiana	47
Tabla 5. Flujos Poblacionales en la Región Caribe	48
Tabla 6. Porcentajes de contribución de población de cada departamento a la Región Caribe	50
Tabla 7. Primers empleados en la reacción de amplificación de las regiones HVI y HVII	52
Tabla 8. Condiciones para la PCR	53
Tabla 9. Programa de Termociclaje	53
Tabla 10. Mezcla empleada para la reacción de secuencia	55
Tabla 11. Condiciones de termociclaje para la reacción de secuencia	55
Tabla 12. Programas comúnmente empleados para el análisis genético poblacional de secuencias.	58
Tabla 13. Cambios en las posiciones HVI – HVII que definen haplogrupos	61
Tabla 14. Frecuencias haplotípicas observadas	68
Tabla 15. Comparación del porcentaje de haplotipos con otros estudios	69
Tabla 16. Frecuencia de haplotipos por departamento	71
Tabla 17. Cambios con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge Observados	73

	pág.
Tabla 18. Número de muestras que presentaron variación por cada posición	76
Tabla 19. Tipos de heteroplasmía encontrados	79
Tabla 20. Porcentajes de heteroplasmía reportados en diferentes Poblaciones	81
Tabla 21. Estimadores genético poblacionales.	82
Tabla 22. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)	86
Tabla 23. Diferencias Pareadas entre Departamentos	86
Tabla 24. Clasificación inicial de las secuencias en haplogrupos	89
Tabla 25. Asignación de haplogrupos empleando el software mtDNAmanager de las secuencias originalmente categorizadas como “sin clasificar”.	90
Tabla 26. Haplogrupos encontrados en la Región Caribe incluyendo las secuencias clasificadas con el software mtDNAmanager	91
Tabla 27. Composición de Haplogrupos en poblaciones Americanas	93

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Patrón de VNTRs.	20
Figura 2. Genotipos revelados del kit POLYMARKER.	21
Figura 3. Electroferograma mostrando un perfil genético de STRs nucleares	22
Figura 4. STRs de cromosoma Y disponibles en los kits comerciales Power Plex Y <sup>®</sup> y Ampf <sup>®</sup> STR Y filer <sup>®</sup> .	24
Figura 5. Mapa del genoma mitocondrial humano	30
Figura 6. Detalle de la Región Control o D-Loop	30
Figura 7. Secuencia que presenta heteroplasmía de punto	33
Figura 8. Muestra secuenciada y alineada con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge	35
Figura 9. Ruta de las migraciones Humanas	41
Figura 10. Regiones del ADN mitocondrial Amplificadas	53
Figura 11. Distribución de la muestra por departamentos	64
Figura 12. Distribución de la muestra por rangos de edad	65
Figura 13. Lugar de Nacimiento de los individuos muestreados	66
Figura 14. Chequeo de amplificación de la región HVI en gel de agarosa	67
Figura 15. Chequeo de amplificación de la región HVII en gel de agarosa	67
Figura 16. Posiciones que presentaron cambios y No. de cambios observados en la muestra.	72
Figura 17. Tipos de Cambios con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge observados	74

	pág.
Figura 18. Tipos de Cambios con respecto a la secuencia de Cambridge observados por región	75
Figura 19. Muestra que presentó heteroplasmía de punto en la posición 16290	79
Figura 20. Muestra que presentó heteroplasmía de longitud	80
Figura 21. Dendograma por Departamentos	87
Figura 22. Clasificación inicial de haplogrupos	89
Figura 23. Distribución de haplogrupos en toda la región incluyendo las secuencias clasificadas con el software mtDNAManager	92
Figura 24. Distribución de Haplogrupos en Atlántico	96
Figura 25. Distribución de Haplogrupos en Bolívar	96
Figura 26. Distribución de Haplogrupos en el Cesar	97
Figura 27. Distribución de Haplogrupos en Córdoba	97
Figura 28. Distribución de Haplogrupos en La Guajira	98
Figura 29. Distribución de Haplogrupos en Magdalena	98
Figura 30. Distribución de Haplogrupos en Sucre	99

## LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A. Frecuencia de los haplotipos	115

## RESUMEN

El ADN mitocondrial es empleado actualmente en la resolución de casos de genética forense cuando las evidencias contienen escasa cantidad de ADN nuclear o se encuentra degradado, también es útil en casos de filiación por linaje materno.

La composición de los linajes mitocondriales no se conoce aún para todas las regiones de Colombia, el presente estudio contribuye ampliando el conocimiento de la composición de las regiones HVI y HVII del ADN mitocondrial en la región Caribe Colombiana, lo cual permitiría reportar cálculos de probabilidad en los informes periciales que son emitidos a las autoridades judiciales.

Para cumplir con este propósito, se secuenciaron las regiones HVI y HVII del ADN mitocondrial en 197 individuos no relacionados del Caribe Colombiano con el fin de realizar la caracterización genético poblacional y ampliar la base de datos de ADN Mitocondrial en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.

Se encontraron 143 haplotipos diferentes, 24 de ellos se repiten, los haplotipos que mostraron mayor frecuencia se observaron en un 5%. Por otra parte, se detectaron los cinco haplogrupos fundadores nativo-americanos A, B, C, D y X, una importante proporción de haplogrupos africanos y en menor proporción europeos y asiáticos.

Los índices de diversidad y la ausencia de diferencia en la composición de las regiones hipervariables entre departamentos muestran que las regiones HVI y HVII son útiles para el uso forense en esta población.

Este estudio amplía el conocimiento de la estructura genético poblacional de las regiones hipervariables del ADN mitocondrial en Colombia y tiene un impacto importante en la casuística forense.



## INTRODUCCIÓN

Para el uso de la secuenciación de las regiones hipervariables I y II (HVI Y HVII) del DNA mitocondrial (mtDNA) como metodología para la resolución de casos de genética forense, es necesario conocer el grado de variabilidad de las secuencias en las poblaciones, además es de vital importancia contar con bases de datos para interpretar correctamente los resultados.

En Colombia, se requiere ampliar los estudios genético-poblacionales de las regiones HVI Y HVII del asa de desplazamiento del mtDNA, con el fin de generar datos para la correcta interpretación de los resultados en todas las regiones geográficas.

El estudio y comparación del grado de variación de las secuencias, permite agrupar poblaciones de acuerdo con los resultados obtenidos y así ampliar el tamaño de las bases de datos existentes, o generar bases de datos por regiones. La tipificación y análisis de las secuencias en la Región Caribe Colombiana contribuye de manera importante con este propósito.

El presente estudio amplía el conocimiento genético poblacional de la región Caribe y permite relacionar la distribución de linajes mitocondriales con la historia antigua y reciente del poblamiento de nuestro país.

Como objetivo general se planteó analizar la variación de las secuencias de las regiones hipervariables I y II del ADN mitocondrial en la región Caribe Colombiana.

ampliar la base de datos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses (INMLCF) de las secuencias de las regiones hipervariables I y II del DNA mitocondrial con individuos de la región Caribe Colombiana con fines poblacionales y forenses.

Objetivos específicos:

- Ampliar la base de datos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses (INMLCF) de las secuencias de las regiones hipervariables I y II del DNA mitocondrial con las secuencias de 200 individuos no relacionados residentes en la región Caribe Colombiana con fines poblacionales y forenses.
- Analizar la variación de las secuencias de las regiones hipervariables I y II del DNA mitocondrial con fines de filiación humana por vía matrilineal.

- Comparar las secuencias encontradas y el grado de variación de las mismas con las encontradas en otras poblaciones a nivel mundial con el fin de establecer relaciones filogenéticas.
- Establecer el grado de heteroplasmía en las secuencias analizadas.
- Clasificar las secuencias encontradas en haplogrupos, teniendo en cuenta la correlación existente entre éstos y las secuencias de HVI Y HVII, con el fin de comparar la estructura poblacional del DNA mitocondrial de la Región Caribe Colombiana con la estructura de otras poblaciones.

Para alcanzar estos objetivos se secuenciaron muestras de sangre de individuos residentes en la región Caribe Colombiana, se calcularon diferentes estimadores genético poblacionales que permitieron medir el grado de variabilidad de los linajes mitocondriales en la región, y los haplotipos se clasificaron en haplogrupos con el fin de establecer los orígenes de estos linajes maternos en el Caribe Colombiano.

El INMLCF y los demás laboratorios del Sistema Nacional de Medicina Legal deben contar con pruebas basadas en la aplicación del conocimiento científico a la realidad nacional, es por esto de vital importancia dentro del área de la genética forense conocer la composición genético poblacional del País con el fin de generar una correcta interpretación de resultados que permitan al aparato juzgador aproximarse a la verdad y de esta manera contribuir con la correcta aplicación de la Justicia.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 HISTORIA DE LA GENÉTICA FORENSE

La genética forense es la aplicación de la genética, la biología molecular y la estadística al análisis de vestigios biológicos para apoyar la toma de decisiones en la administración de justicia<sup>1</sup>.

El análisis de ADN se ha convertido en una herramienta indispensable y rutinaria en la investigación forense. Como mencionan Jobblin y Gill: *“Todas las cosas vivientes contienen ADN y todo el ADN exhibe variabilidad entre y dentro de las especies, cualquier material biológico asociado con un caso legal porta información acerca de su fuente”*<sup>2</sup>

El fin de la genética forense es conocer el origen de los vestigios biológicos, esto se hace en el área de la criminalística para relacionar los vestigios biológicos con la escena en la que sucedieron los hechos, el victimario con la víctima, o la víctima con el victimario o alguno de ellos dos con la escena o para relacionar escenas entre sí. En el área de la filiación, se emplean las reglas básicas de la transmisión de la herencia para determinar paternidad en casos civiles o penales (investigación de la paternidad biológica, paternidad post- violación, identificación de restos óseos, por ejemplo), maternidad (en casos de robos de bebés, cambios de bebés o abortos) o identificar individuos que murieron en circunstancias violentas.

Los primeros trabajos en genética forense se hicieron empleando la tipificación de los grupos sanguíneos ABO, lo cual era útil en los casos de exclusión, es decir, cuando la muestra de referencia (esto es, una muestra de origen conocido bien sea de la víctima o del victimario) exhibía un grupo sanguíneo diferente al del vestigio biológico (en este caso sangre) con el cual se pretendía relacionar la muestra conocida, pero debido a la escasa variabilidad de este sistema (bialélico), no era útil para discriminar dos muestras que exhibían el mismo tipo sanguíneo. Hasta 1980, se emplearon métodos serológicos y electroforesis de proteínas para análisis de grupos sanguíneos y de polimorfismos de proteínas, con la desventaja de que éstos últimos se degradaban rápidamente y eran blanco de enzimas bacterianas, además de exhibir relativamente poca variabilidad<sup>3</sup>.

---

<sup>1</sup> Definición propia de la autora.

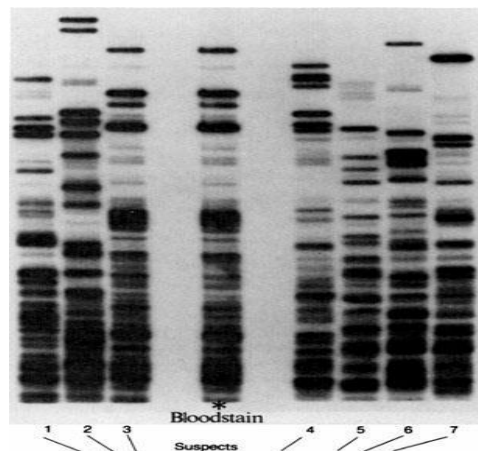
<sup>2</sup> MARK A, Jobling y GILL, Peter. Encoded Evidence: DNA In Forensic Analysis. En: Nature Reviews Genetics. Octubre 2006. vol. 5, p. 739 - 751

<sup>3</sup> Ibíd.

**1.1.1 Número Variable de Repeticiones en Tandem. Variable number of tandem Repeats (VNTRs).** A mediados de de 1980, Alec Jeffreys mostró que a partir de segmentos altamente polimórficos del ADN, los minisatélites o VNTRs (Variable number of tandem repeats), se podrían generar perfiles individualizantes de ADN, que se llamaron “huellas dactilares de ADN” o “DNA fingerprints”. Luego se evidenció que este tipo de perfiles genéticos podrían ser generados a partir de manchas de sangre secas de varios años de antigüedad, expuestas a condiciones medioambientales, a partir de manchas de semen, de bulbos pilosos y de cualquier fluido biológico<sup>4</sup>.

Los minisatélites o VNTRs se podían visualizar digiriendo el ADN con enzimas de restricción para generar fragmentos de diferente longitud de entre 1 y 20 kb, luego de la digestión se realizaba una electroforesis para separarlos por tamaño y se visualizaban empleando sondas multilocus que hibridizaban con varios loci microsatélite a la vez, las sondas producían patrones específicos por individuo (ver Figura 1). Esta metodología acarrea mucho tiempo de análisis y por esta razón se empleaba únicamente para resolver crímenes violentos. El mayor problema de este tipo de análisis era la gran cantidad de ADN necesaria, que no está presente en la mayoría de muestras forenses. Como indican Gill P y Buchleton, “el uso de sondas multilocus en el trabajo forense es en gran medida histórico”<sup>5</sup>

**Figura 1. Patrón de VNTRs.**



Muestra el patrón obtenido por sondas multilocus para seis muestras de referencia y la muestra dubitada, en este caso, mancha de sangre. Tomada de:

<http://www.cbs.dtu.dk/staff/dave/roanoke/genetics10.htm> Consultada 2009-01-17

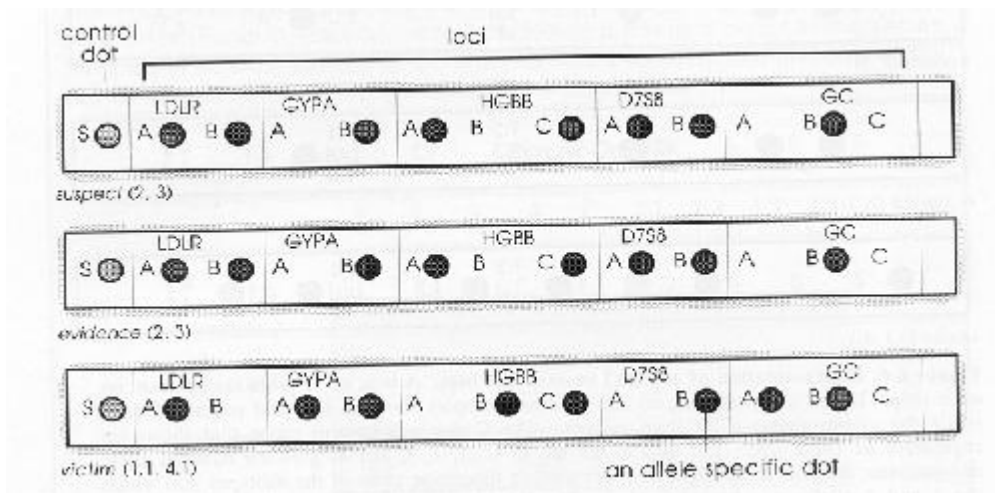
<sup>4</sup> DECORTE, Ronny y CASSIMAN, Jean-Jacques. Forensic medicine and the polymerase chain reaction technique *En: J Med Genet* 1993. vol 30, p. 625-633

<sup>5</sup> GILL Peter y BUCKLETON J. Biological Basis for DNA Evidence. *En: Forensic DNA Evidence Interpretation*. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2005. p. 2-25

**1.1.2 HLA DQA1 – POLIMARKER.** Con el advenimiento de la PCR (reacción en Cadena de la Polimerasa) (Kary Mullis, 1983), se desarrollaron métodos más sensibles, de tal forma que no se requería una gran cantidad de ADN molde, lo cual favoreció el análisis de muestras forenses.

Los primeros métodos combinaban PCR con hibridación por Dot Blot Reverso con sondas ASO (Allele Specific Oligonucleotides), que permitían identificar el genotipo de la muestra para el gen HLA DQA1 del grupo de genes del complejo mayor de histocompatibilidad, posteriormente salió al mercado un kit comercial que permitía identificar este genotipo y los alelos de otros cinco sistemas genéticos a saber: LDLR (Receptor de las Lipoproteínas de Baja densidad), GYPA (Glicoforina A), HBGG (Cadena  $\gamma$  de la hemoglobina), D7S8 (secuencia de ADN de copia única no codificante ubicada en el cromosoma 7) y Gc (componente Grupo Específico). El procedimiento consistía en la hibridación del producto amplificado a las sondas y revelado con un conjugado enzimático, por medio de una reacción colorimétrica (ver figura 2).<sup>6</sup>

**Figura 2. Genotipos revelados del kit POLYMARKER.**



Se muestran los genotipos de la víctima, la evidencia y el sospechoso. Tomado de <http://www.science.kennesaw.edu/~rrascati/images/pm.gif> Consultada 2009-03-17

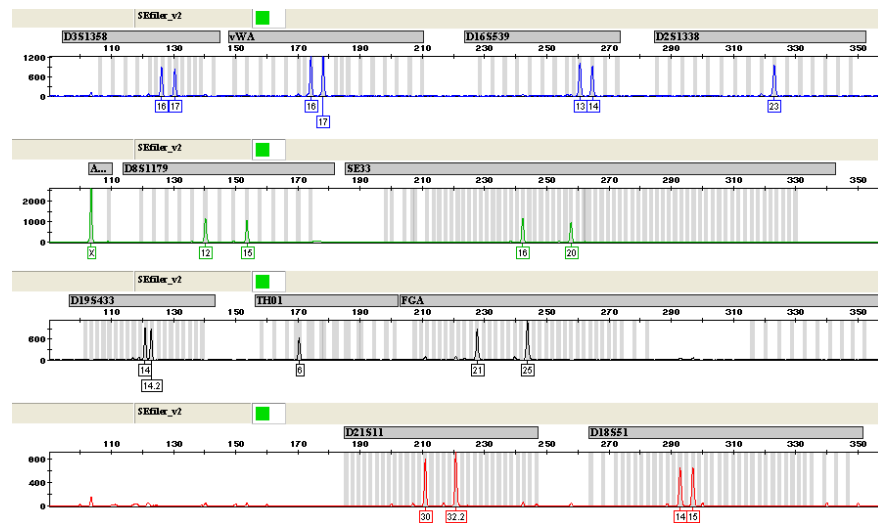
Debido a la cantidad de tiempo empleado en el análisis, el bajo poder de discriminación y la dificultad para el análisis de mezclas así como el advenimiento de los STRs, se reemplazó esta técnica.

<sup>6</sup> TERREROS IBÁÑEZ, Grace Alexandra. Caracterización Genética de una muestra de individuos nacidos en Santafé de Bogotá, mediante los loci HLA DQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC. Trabajo de Grado Bióloga. Santafé de Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología, 1998

**1.1.3 Microsatélites – STRs (Short Tandem Repeats).** Los microsatélites o STRs son secuencias de ADN repetidas de 2 a 6 pb que se encuentran dispersas a través del genoma. Los más comunes son los dinucleótidos, aquellos que contienen una unidad de repetición CA (cerca del 0.5% del genoma)<sup>7</sup>. Según Urquhart los STRs se clasifican de acuerdo con la complejidad de sus secuencias así, los simples, como el HUMTHO1, consisten en una secuencia simple de repetición (TCAT) 5 – 11. Los compuestos, que poseen dos o más secuencias repetidas como el HUMVWA o complejos, como el ACTBP2, los cuales son menos uniformes. En genética forense, *“la tipificación de marcadores autonómicos tipo STRs detectados a través de sistemas automáticos basados en la fluorescencia de los primers son casi universalmente usados en los laboratorios del mundo entero”*.<sup>8</sup>

La técnica consiste en amplificar por PCR la región de interés, empleando primers marcados con fluorocromos, usualmente en reacciones multiplex, es decir, de varios sistemas genéticos a la vez, los kits comerciales mayormente empleados hoy en día, amplifican hasta 15 sistemas tipo STR en una sola reacción. Una vez obtenido el producto amplificado tanto de las muestras dubitadas como de las muestras de referencia, se realiza el montaje por electroforesis capilar en una plataforma automática, que excita los fluoroprimers de cada muestra cuando esta pasa a través de un laser. Los resultados son leídos como “picos” en un electroferograma, cada pico corresponde a un determinado alelo en la muestra, esto es al número de repeticiones que porta cada cromosoma. (Ver figura 3)

**Figura 3. Electroferograma mostrando un perfil genético de STRs nucleares**



<sup>7</sup> STRACHAN, Tom y READ, Andrew. Extragenic repeated DNA sequences and transposable elements. En: Human Molecular Genetics 2. New York. Garland Sciences. 1999

<sup>8</sup> BRETTELL T.A et al. Forensic Science. En: Anal. Chem. 2005. vol 77, p. 3839-3860

Los STRs nucleares más empleados hoy en día se mencionan en la tabla No. 1

**Tabla 1. STRs nucleares más empleados en genética forense**

<b>NOMBRE DEL STR</b>	<b>NOMBRE DEL KIT COMERCIAL CON EL CUAL SE AMPLIFICA (CASAS COMERCIALES APPLIED BIOSYSTEMS Y PROMEGA)</b>
<u>D8S1179,</u>	<u>Identifiler, Profiler Plus, PowerPlex 16, Profiler Plus, SGM Plus,</u>
<u>D21S11,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, SGM Plus, Identifiler</u>
<u>D7S820,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, COfiler, Identifiler</u>
<u>CSF1PO,</u>	<u>PowerPlex 16, COfiler, Identifiler</u>
<u>D3S1358,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, COfiler, SGM Plus, Identifiler</u>
<u>TH01,</u>	<u>PowerPlex 16, COfiler, SGM Plus, Identifiler</u>
<u>D13S317,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, Identifiler</u>
<u>D16S539,</u>	<u>PowerPlex 16, COfiler, SGM Plus, Identifiler</u>
<u>D2S1338,</u>	<u>SGM Plus, Identifiler, SEfiler</u>
<u>D19S433,</u>	<u>SGM Plus, Identifiler</u>
<u>VWA,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, SGM Plus, Identifiler</u>
<u>TPOX,</u>	<u>PowerPlex 16, COfiler, Identifiler</u>
<u>D18S51,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, SGM Plus, Identifiler</u>
<u>D5S818,</u>	<u>PowerPlex 16, Profiler Plus, Identifiler</u>
<u>FGA</u>	<u>Profiler Plus, SGM Plus, Identifiler, PowerPlex 16</u>
<u>PENTAD</u>	<u>PowerPlex 16</u>
<u>PENTAE</u>	<u>PowerPlex 16</u>
<u>SE33</u>	<u>PowerPlex ES, SEfiler</u>

Consultado en: <http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/multiplx.htm>. Consultada: 2009-03-18.

**1.1.4 STRs de Cromosoma Y .** El cromosoma Y es exclusivamente masculino y se presenta en una sola copia, condición conocida como hemizigocidad, representa cerca de un 2% del total del genoma humano y posee alrededor de 60KB de longitud. Aproximadamente el 95% de este cromosoma no recombina, la recombinación ocurre solamente en las regiones distales PAR 1 y PAR 2. Este cromosoma posee diferentes tipos de polimorfismo como SNPs microsátélites y minisátélites.

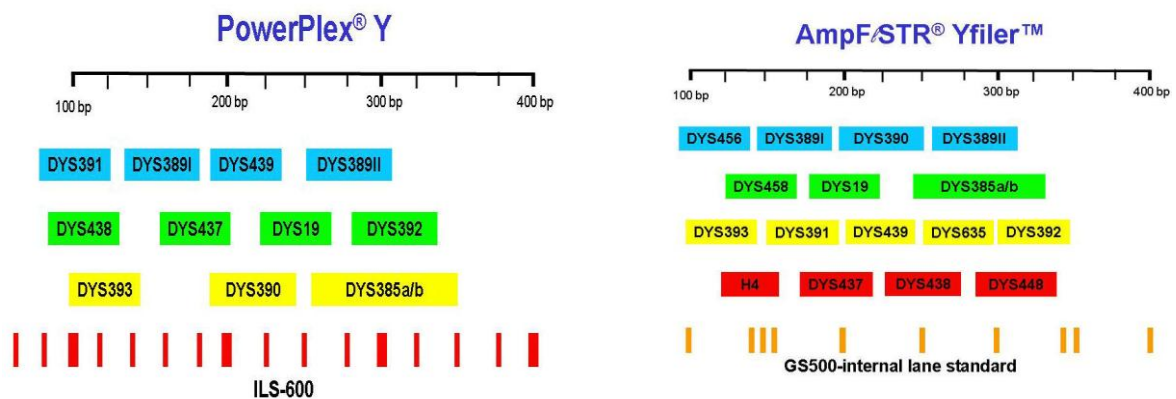
Debido al alto grado de polimorfismo, a la posibilidad de amplificación por PCR multiplex y la facilidad de análisis, se han escogido STRs en este cromosoma para análisis forense.<sup>9</sup> Como menciona Butler<sup>10</sup>, el campo del análisis de cromosoma Y y su aplicación a las ciencias forenses ha sufrido un rápido perfeccionamiento en los últimos años. Existen kits comercialmente disponibles para su rápida amplificación y las plataformas de electroforesis capilar han sido adaptadas para una fácil tipificación.

<sup>9</sup> BUCKLETON, J. et al. Nonautosomal Forensic Markers En: Forensic DNA Evidence Interpretation. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2005. p. 2-25

<sup>10</sup> BUTLER, J.M. Recent developments in Y-Single Tandem Repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. En Forensic Sci Rev. 2003. vol 15, p. 91-111

La técnica de STRs de cromosoma Y ha sido usado en el análisis del delito sexual y del homicidio (en aquellos casos en los que no se logra obtener un perfil genético masculino por STRs nucleares o como herramienta para conocer el número de aportantes en caso de muestras mezcladas), también es empleado como una aproximación en casos de paternidad en los cuales el padre se encuentra ausente o en el campo de la de identificación de individuos. Existen estudios de validación y pruebas interlaboratorias que han demostrado que la tipificación de STRs del cromosoma Y es confiable.<sup>11</sup> En Colombia, se emplean dos tipos de kits comercial para amplificar 11 STRs (Power Plex Y<sup>®</sup>) y 16 STR (Ampf $\ell$  STR Y filer<sup>®</sup>). En la figura 4 se muestran los loci amplificados por cada kit.

**Figura 4. STRs de cromosoma Y disponibles en los kits comerciales Power Plex Y<sup>®</sup> y Ampf $\ell$  STR Y filer<sup>®</sup>.**



Tomado de [http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/y\\_strs.htm](http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/y_strs.htm) consultado 2009-03-18

**1.1.5 ADN mitocondrial.** El ADN mitocondrial, se encuentra localizado, como su nombre lo indica en las mitocondrias, de tal forma que se encuentran en gran cantidad de copias por célula.

En el caso de muestras forenses se emplean actualmente técnicas de secuenciación de las regiones hipervariables del ADNmt, cuando éstas tienen muy poco material genético nuclear o se encuentra altamente fragmentado (restos óseos, pelos) de tal forma que los STRs nucleares no dan resultados positivos en la amplificación<sup>12, 13, 14, 15, 16</sup>. Además, últimamente se ha incrementado el uso del

<sup>11</sup> Ibíd

<sup>12</sup> ANDRÉASSON, H et al. Forensic Mitochondrial coding region análisis for increased discrimination using pyrosequencing technology. *En: Genetics* 2007. vol 1. p. 35-43.

<sup>13</sup> BUCKLETON J. et al. Op.cit



ADNmt en los casos de identificación de víctimas en desastres masivos y fosas comunes.<sup>17</sup>

El análisis de ADNmt tiene una gran aplicación en estudios de evolución humana, origen de poblaciones, estudios filogenéticos<sup>18</sup>, de hecho, Heyer et al mencionan que el ADN mitocondrial y en particular la región control es la secuencia de ADN mayormente analizada en estudios evolutivos<sup>19</sup>. El genoma mitocondrial ha sido usado como biosensor de tiempos y movimientos de las poblaciones humanas en la antigüedad, adicionalmente, el ADNmt tiene utilidad médica pues sirve como biosensor de alteraciones genéticas.<sup>20</sup> En medicina forense, su estudio se ha aplicado desde hace 15 años pues siempre constituye la última oportunidad de tener éxito en la tipificación de ADN cuando el ADN presente en la muestra está muy degradado o en cantidad muy limitada.<sup>21, 22, 23</sup>

El mtDNA es útil en casos de filiación de restos humanos, cuando las muestras de referencia con las que se cuenta son familiares distantes por linaje materno, casos de maternidad y cotejo directo entre elementos materia de prueba y muestras de implicados o víctimas. De hecho, en la recomendación No. 8 de la ISFG (International Society for Forensic Genetics) respecto al rol de la genética forense en la identificación de víctimas de desastre, se menciona: *“Si la tipificación estándar de STRs autonómicos, no da suficiente información, la tipificación de sistemas adicionales como ADNmt, STRs de cromosoma Y o SNPs debe ser empleada”*<sup>24</sup>

Esta técnica se ha empleado en casos reconocidos a nivel mundial como la identificación del Zar de Rusia Nicolas Romanov II, asesinado junto con su familia

---

<sup>14</sup> STEIGHNER, R.J. et al. Comparative Identity and Homogeneity Testing of the mtDNA HVI Region Using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. En: J. Forensic Sci. 1999. vol. 44(6) p.1186-1198

<sup>15</sup> KAZUMASA, S. Mitochondrial DNA Heteroplasmy Among Hairs from Single Individuals. En: J. Forensic Sci. 2004 vol. 49(5) p.986-990

<sup>16</sup> SCHNEIDER, P. Scientific standards for studies in forensic genetics. En: Forensic Science International. 2007. vol 165. p. 238-243

<sup>17</sup> BUCKLETON, J. et al. Op.cit

<sup>18</sup> ALVAREZ, J. Análisis de ADN mitocondrial. En: Forensica. 2001. vol 1. p. 40-59

<sup>19</sup> HEYER, E et al. Phylogenetic and Familial Estimates of Mitochondrial Substitution Rates: Study of Control Region Mutations in Deep-Rooting Pedigrees En: Am. J. Hum. Genet. 2001. Vol. 69.p 1113–1126

<sup>20</sup> PARR, R et al. The pseudo-mitochondrial genome influences mistakes in heteroplasmy interpretation. En: BMC Genomics 2006, 7:185 doi:10.1186/1471-2164-7-185

<sup>21</sup> PARSON, W y BANDELT, H. Extended guidelines for mtDNA typing of population data in forensic science. En: Forensic Science International: Genetics. vol 1(1). p 13-19

<sup>22</sup> KLINE M et al. Mitochondrial DNA Typing Screens with control region and coding region SNPs. En: J Forensic Sci, 2005, Vol. 50(2). p.377-385

<sup>23</sup> MELTON T y NELSON K. Forensic Mitochondrial DNA Analysis: Two Years of Commercial Casework Experience in the United States. En: Croatian Medical Journal. 2001 vol 42(3) p.298-303

<sup>24</sup> PRINSZ, M. et al. DNA Comisión of the Internacional Society for Forensic Genetics (ISFG): Recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). En: Forensic Science Internacional: Genetics 2007 vol 1 p.3-12

y sus cinco hijos en 1918 por la policía secreta de Lenin. Los restos fueron encontrados en 1991 en Ekaterimburgo, Rusia e identificados preliminarmente como el Zar, la Emperatriz Alexandra, tres de sus hijos, el médico y tres sirvientes; la identificación fue confirmada empleando secuenciación de las regiones hipervariables del ADN mitocondrial y publicada en 1994<sup>25</sup>. También en la identificación de soldados de la guerra del Vietnam<sup>26</sup> y más recientemente la identificación de víctimas en el desastre de las torres gemelas<sup>27</sup>. En Colombia, se ha utilizado en el área criminalística cuando se involucran pelos como evidencia biológica, en casos de filiación de restos humanos cuando no se obtienen perfiles genéticos para STRs nucleares, o en estudios de filiación en los cuales no se cuenta con muestras de referencia de familiares cercanos (padres o hijos) sino solamente con muestras de familiares por línea materna, el caso más reciente que implicó este tipo de estudio y que fue publicitado por los medios de comunicación fue la identificación del menor hijo de Clara Rojas, secuestrada por las FARC.

En los subtítulos siguientes se profundiza acerca de la estructura, tipo de herencia y ventajas para el uso de este marcador genético en el ámbito forense.

**1.1.6 Inicios de la Genética Forense en Colombia.** La Genética forense en Colombia, inició en el campo de la criminalística con las pruebas de tipificación de grupos sanguíneos y polimorfismos de proteínas en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, análisis previos se habían realizado en el área de las pruebas de paternidad en el Laboratorio dirigido por el Dr Yunis Turbay.

Las técnicas fueron avanzando y es así como en el año 1993 se creó el Laboratorio de Genética Forense en esta misma institución, el cual en sus inicios empleaba técnicas de hibridación por Dot Blot para determinar genotipos de HLA alpha y Polimarker y posteriormente cuatro STRs (HUMVWA, THO1, FES, F13A1) Luego, se implementaron las técnicas de Dot Blot en el Laboratorio de la Policía Nacional de Colombia y posteriormente en el Laboratorio de Genética del Cuerpo Técnico de Investigación.

En el área de filiación, varios laboratorios a nivel nacional iniciaron el trabajo en pruebas de paternidad, empleando técnicas de hibridación por Dot Blot para determinar genotipos de HLA alpha y genotipos de los sistemas incluidos en el kit Polimarker (LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y Gc); precedidos por el trabajo del

---

<sup>25</sup> GILL, Peter. et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. En: Nature Genetics 1994. vol 6. P. 130 - 135

<sup>26</sup> HOLLAND M. et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War En: J Forensic Sci. 1993 May. vol 38(3) p. 542-53.

<sup>27</sup> BALLARD D. SNPs. En: Short Course in Forensic Genetics Personalized Training for ICRC practitioners and stakeholders, to help meet their needs in field. School of Forensic and Investigative Sciences. (2009: University of Central Lancashire, Preston, U.K.)

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, en cuyo laboratorio se empleaban técnicas de tipificación de grupos sanguíneos ABO, MN, Duffy y otros.

Actualmente, los tres laboratorios forenses oficiales, así como los laboratorios oficiales y privados que realizan pruebas de paternidad, emplean los STRs como la metodología de rutina para el análisis de las muestras, algunos han implementado también el uso de marcadores no autosómicos como ADN mitocondrial, STRs de cromosoma Y y STRs de cromosoma X según el tipo de caso.

Varios laboratorios han sido acreditados por la Superintendencia de Industria y Comercio, con los estándares de la norma NTC - ISO 17025<sup>28</sup> la cual establece los requisitos generales de competencia para los laboratorios de ensayo o calibración, para realizar pruebas de paternidad y maternidad en Colombia, de acuerdo con la exigencia de la Ley 721<sup>29</sup>. En la opinión propia de la autora, actualmente se emplean en Colombia técnicas validadas y reconocidas por la comunidad científica internacional en el área y los laboratorios cuentan, en su mayoría con las mismas plataformas tecnológicas empleadas a nivel mundial.

## 1.2 LA MITOCONDRIA

**1.2.1 Estructura y Función de la Mitocondria.** Las mitocondrias son organelos subcelulares de los eucariotes, su tamaño varía, en hepatocitos y fibroblastos, posee un tamaño aproximado de 3 a 4 micras de longitud y 1 micra de diámetro.<sup>30</sup> Su principal característica morfológica es la gran cantidad de membranas internas que la componen,<sup>31</sup> posee un sistema de doble membrana con una membrana interna y otra externa separadas por el espacio intermembranal, la membrana interna forma numerosos pliegues llamados crestas, las cuales se extienden hasta la matriz del organelo. La matriz contiene el genoma mitocondrial y las enzimas responsables del metabolismo oxidativo.<sup>32</sup>

La mitocondria juega un rol crítico en la generación de energía metabólica, es la responsable de producir la mayoría de la energía derivada de la degradación de carbohidratos y ácidos grasos, los cuales son convertidos a ATP por el proceso de

---

<sup>28</sup> INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO-IEC 17025. Bogotá D.C. ICONTEC 2005

<sup>29</sup> COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley 721 (24, diciembre, 2001). Por la cual se modifica la Ley 75 de 1968. Diario Oficial. Bogotá, D.C., 2001. No. 44.661.

<sup>30</sup> SCHEFFLER I. Mitocondria. New York. Wiley-Liss, 2007. p 19.

<sup>31</sup> ALBERTS, Bruce. et al. Molecular Biology of the cell. 4ta. Ed. New York. Garland Publishing. 2002. 1642p.

<sup>32</sup> COOPER, Geoffrey M. The Cell. A molecular Approach. 2da Ed. U.S.A: Sinauer Associates. 2000.

fosforilación oxidativa. Un grupo de complejos enzimáticos, designados como complejo I al V llevan a cabo este proceso dentro de la mitocondria.

Adicionalmente a la producción de energía, la mitocondria participa en la regulación de la apoptosis celular<sup>33</sup>, y también juega un papel importante en la producción del colesterol y el grupo hemo (componente de la hemoglobina).

**1.2.2 Origen de la Mitocondria como Organelo Subcelular.** Hace dos millones de años la tensión de oxígeno en la atmósfera terrestre se incrementó rápidamente (pasó de 1 a 15% en 200 millones de años), varios autores argumentan que el origen de la mitocondria como organelo de los organismos primitivos eucariotes pudo deberse a este cambio en las condiciones del medio ambiente.<sup>34</sup>

Debido a que el genoma mitocondrial muestra grandes similitudes con el genoma de las células procarióticas, se ha sugerido que un precursor de las células eucarióticas (protoeucariote) endosito algún tipo de célula procariótica (simbionte)<sup>35</sup>, este proceso confirió ventajas evolutivas a la nueva célula. Esta teoría fue soportada en algunas características del genoma mitocondrial que se asemejan a las de los genomas bacterianos tales como su pequeño tamaño, circularidad, la ausencia de intrones, un alto porcentaje de DNA codificante, entre otras<sup>36</sup>.

Sin embargo, si se compara el genoma mitocondrial de hoy en día con los genomas bacterianos, se puede observar que el genoma mitocondrial es mucho más pequeño que el bacteriano. Mientras que el mitocondrial humano consta de 16Kb y 37 genes, el genoma de eubacterias contiene de una a unas pocas Mb de DNA con cientos a miles de genes, las teorías del origen del genoma mitocondrial explican que hubo transferencia de genes que originalmente hacían parte de la célula procariótica endocitada hacia el núcleo de la célula hospedera. Actualmente se han propuesto dos hipótesis para explicar el origen de la mitocondria como organelo de las células eucarióticas: la hipótesis de la endosimbiosis serial que supone que las células eucarióticas evolucionaron a partir de una serie de endocitosis, lo cual está soportado en la presencia de regiones del genoma eucariótico similares a las de arqueobacterias y otras similares a las de

---

<sup>33</sup>BERG J. Biochemistry. USA. Freeman and company. 2002. Consultado en: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook.pdf>, el 2009-05-20

<sup>34</sup> KURLAND, C.G. y ANDERSSON G.E. Origin and Evolution of the Mitochondrial Proteome. En: Microbiology and Molecular Reviews. 2000. vol 64 No. 4. p. 786-820

<sup>35</sup> MARGULIS, L. Origin of eukariotic cells. Citado por KURLAND, C.G. Op Cit.

<sup>36</sup> STRACHAN, Tom. y READ, Andrew. Human Molecular Genetics 2. New York. Garland Sciences. 1999

eubacterias y la hipótesis del hidrógeno o de la sintropía, en esta hipótesis se sugiere que los eucariotes aparecieron de una arqueobacteria estrictamente anaeróbica autotrófica la cual requería hidrógeno, con una eubacteria productora de hidrógeno como la  $\alpha$  proteobacteria, la fuerza que dirigió esta asociación fue el metabolismo simbiótico (la sintropía).<sup>37</sup>

**1.2.3 Organización del Genoma Mitocondrial.** Las mitocondrias, poseen su propio material genético, el mtDNA, sin embargo, gran parte de sus proteínas funcionales y estructurales están codificadas por el núcleo celular. A diferencia del DNA nuclear, el mtDNA se asemeja al DNA bacteriano en su forma de doble hélice circular.<sup>38</sup> Está compuesto por dos hebras, la cadena pesada o H (Heavy) y la cadena ligera o L (Light), la cadena pesada contiene una mayor proporción de bases purínicas mientras que la ligera está compuesta mayormente por bases pirimidínicas.

En la región codificante, se encuentran 37 genes altamente empaquetados, 22 codifican para ARNs de transferencia, 2 para ARN ribosomales, uno de 12S y otro de 16S y 13 codifican para enzimas involucradas en la cadena de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa y la producción de ATP.<sup>39</sup>

Además de la región codificante, se encuentra la región no codificante del genoma, la región control, que es la responsable de la regulación del ADNmt. Por su aspecto en microscopía electrónica durante la replicación del ADNmt, ha sido también llamada Asa de desplazamiento (D-Loop), el D-Loop es la región del genoma donde tiene lugar la separación inicial, o desplazamiento de las dos hebras de ADN durante la replicación<sup>40</sup>. La nomenclatura empleada para referirse a las posiciones en el genoma fue escogida arbitrariamente, así: la posición 1 se encuentra en una región intermedia de la región control y se continúa en sentido 5' – 3' hasta la posición 16569.<sup>41</sup>

La región control se divide en regiones según su grado de diversidad, de esta manera se determinan la región hipervariable I que abarca desde la base 16024 hasta la 16365, la región hipervariable II desde la base 73-340, región hipervariable 3 desde la posición 440 hasta la posición 560 y dos regiones con menor variabilidad conocidas como la región variable 1, desde la posición 16366 hasta la posición 72 y la región variable 2 entre las posiciones 341 a 576. Como

---

<sup>37</sup> *Ibíd.*

<sup>38</sup> AIVAREZ JC, Op. Cit.

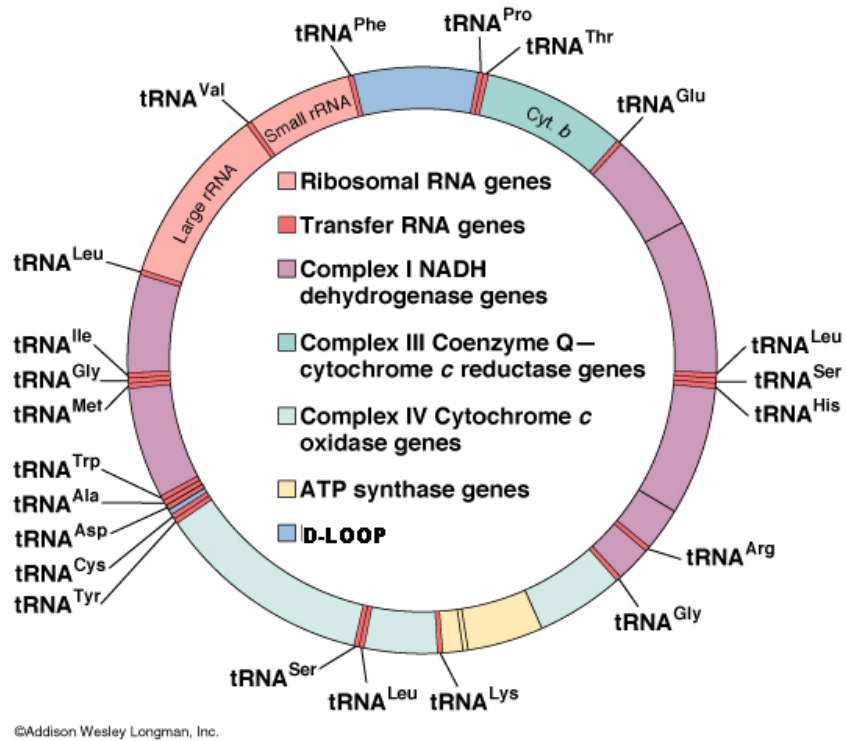
<sup>39</sup> HOLLAND, M.M, y PARSONS, T.J. Mitochondrial DNA Sequence analysis – Validation and use for forensic casework. *En: Forensic Science Review*.1999. vol 11 No. 1.

<sup>40</sup> GOODWIN, W. et al. An introduction to Forensic Genetics. UK. John Wiley and Sons. 2007. p. 138

<sup>41</sup> ALVAREZ J.C, et al. Op. Cit.

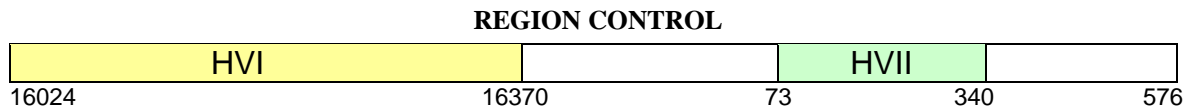
comentan Holland y Parsons, estos límites no son exactamente rígidos y pueden variar entre laboratorios.<sup>42</sup> En la figura No. 5 se puede observar el mapa del genoma mitocondrial humano. En la figura 6 el diagrama de la región control.

**Figura 5. Mapa del genoma mitocondrial humano.**



Adaptado de [www.greentiger.com/mtdna.htm](http://www.greentiger.com/mtdna.htm) consultado 2009-05-21

**Figura 6. Detalle de la Región Control o D-Loop**



Adaptado de HOLLAND MM y PARSONS 1999.

<sup>42</sup> HOLLAND M.M y PARSONS T.J. OP cit.

**1.2.4 Tasa de mutación – Polimorfismos.** El D-Loop tiene una alta tasa de mutación, lo cual es útil en el análisis forense pues exhibe una gran cantidad de variabilidad en regiones cortas y fácilmente secuenciables, como las regiones hipervariables I y II<sup>43</sup> Aunque no existe acuerdo aún entre los autores y las diferentes metodologías para estimar la tasa de mutación, basados en comparaciones entre las secuencias de humanos y de primates, se han estimado tasas de mutación entre 1.5 y 4.95 por sitio, por millón de generaciones, basados en divergencias dentro de las poblaciones humanas, Torroni indica una tasa de 5.4<sup>44</sup>. La tasa de mutación del ADN mitocondrial es más alta comparada con el genoma nuclear y se debe en parte a la exposición del ADNmt a radicales de oxígeno que se producen en la fosforilación oxidativa.<sup>45</sup>

Esta característica de la región control o D-Loop permite diferenciar entre muestras biológicas, por ejemplo, en casos de criminalística, si dos muestras provienen del mismo origen tienen la misma secuencia (la excepción se da si se presenta el fenómeno conocido como heteroplasmia, que se explicará más adelante) Así, mismo, en casos de identificación humana, es posible descartar con exactitud familiares si éstos no comparten la misma secuencia mitocondrial. Si los familiares y los restos humanos a identificar poseen la misma secuencia, existe una alta probabilidad de que tanto los restos como los supuestos familiares provengan del mismo linaje materno (esta probabilidad depende de la frecuencia de la secuencia en la población).

Los polimorfismos presentes en las regiones hipervariables del genoma mitocondrial se dan por transiciones o transversiones que se presentan a lo largo de la secuencia. Si bien, se pueden presentar en cualquier posición, se han detectado posiciones que mutan más frecuentemente que otras, estas son consideradas puntos calientes de mutación o “hot spots”, Salas menciona que las 10 substituciones más frecuentes son transiciones presentes en los sitios 16093, 16129, 16189, 16192, 16311, 16362, 146, 150, 152, and 195<sup>46</sup>

**1.2.5 Número de copias, Herencia Materna.** En genética forense, una de las características por la cual se emplea el estudio del DNA mitocondrial, es el alto número de copias por célula, a diferencia del DNA nuclear que se encuentra en dos copias por célula en organismos diploides, un oocito maduro se estima que tiene miles de mitocondrias y más de 100000 copias de DNA mitocondrial. En células somáticas esta cantidad varía de 200 a 1700 copias de mtDNA

---

<sup>43</sup> SALAS A. et al. Phylogeographic investigations: The role of trees in forensic genetics En: Forensic Science International 2007. vol 168. p. 1–13

<sup>44</sup> ENDICOTT P y SIMON Y.W. A Bayesian Evaluation of Human Mitochondrial Substitution Rates En: The American Journal of Human Genetics 2008. Vol 82. p. 895–902

<sup>45</sup> GOODWIN W, et al. Op. cit.

<sup>46</sup> SALAS A, et al. Op. Cit.

dependiendo del tipo de Tejido.<sup>47</sup> En tejidos altamente degradados, donde el DNA nuclear se encuentra muy fragmentado, la tipificación de sistemas STRs se hace poco exitosa, razón por la cual, dado el alto número de copias de mtDNA por célula, se emplea la secuenciación de las regiones hipervariables I y II como estrategia de abordaje de los casos, de igual forma, en tejidos con escaso número de células como los pelos, huesos y dientes esta herramienta también es ampliamente utilizada por los laboratorios de genética forense.<sup>48</sup>

Otra característica que hace útil el estudio del mtDNA en genética forense, es su tipo de herencia por vía exclusivamente materna, esto quiere decir que todas las personas del mismo linaje materno tendrán, salvo pequeñas mutaciones, el mismo linaje de mtDNA.

Entre las causas biológicas que se han mencionado para explicar este tipo de herencia, se encuentran: 1. Escasa cantidad de mitocondrias en los espermatozoides, comparadas con las miles de mitocondrias del óvulo. 2. La cabeza del espermatozoide es la que penetra el óvulo, las mitocondrias están localizadas en el cuello. 3. Un posible mecanismo de reconocimiento que elimina las mitocondrias paternas que atraviesan la membrana del óvulo. Aunque el mecanismo de eliminación del mtDNA no ha sido completamente dilucidado, ni tampoco es absoluto, pues se conocen persistencias del mtDNA paterno extremadamente bajos, *“es claro que desde el punto de vista práctico para las pruebas forenses, el mtDNA se comporta como heredado por línea materna.”*<sup>49</sup>

**1.2.6 Heteroplasmía.** El mtDNA es esencialmente no recombinante, sin embargo, la tasa de error de la polimerasa y la aparente carencia de mecanismos de reparación colaboran con la alta tasa mutacional implicando una alta hipervariabilidad entre la población humana, esta tasa mutacional permite que en un mismo individuo se encuentre más de un haplotipo mitocondrial, este es el fenómeno conocido como heteroplasmía<sup>50,51</sup> que se puede dar a nivel de la mitocondria, de las células o de los individuos. Se conocen dos tipos de heteroplasmía, la de punto o secuencia, que se da cuando en una misma posición se encuentra más de una base (por ejemplo, A/G en la posición 200) (ver figura 7) y de longitud, cuando existen inserciones o deleciones en la secuencia, este tipo

---

<sup>47</sup> ROBIN,E.D, y WONG R. Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells. En: J Cell Phys. 1988. vol 136. p. 507

<sup>48</sup> ANDREASSON H, et al. Forensic mitochondrial coding region analysis for increased discrimination using pyrosequencing technology. En: Forensic Science International: Genetics 2007. vol 1. p. 35-43

<sup>49</sup> HOLLAND MM y PARSONS TJ. Op. Cit.

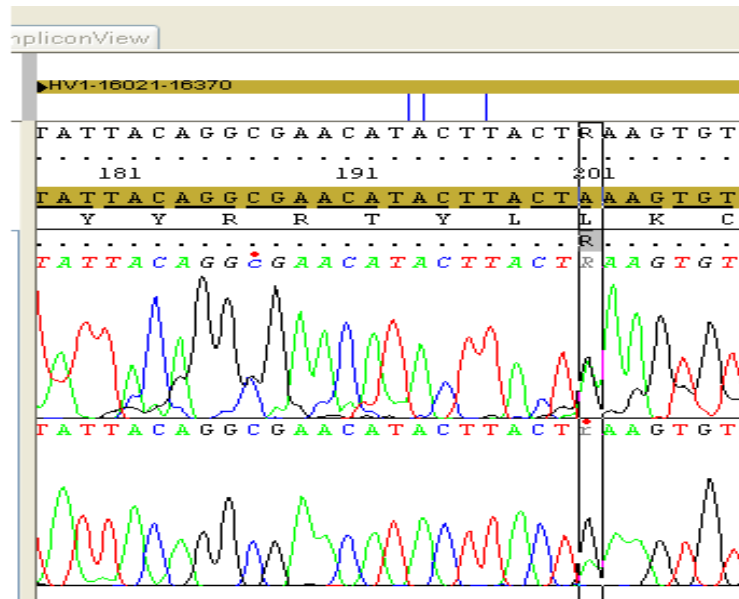
<sup>50</sup> DANIELSON P et al. Resolving mtDNA mixtures by denaturing high-performance liquid chromatography and linkage phase determination. En: Forensic Science International: Genetics 2007. vol 1. p. 148-153

<sup>51</sup> PANETO G. et al. Heteroplasmy in hair: Differences among hair and blood from the same individuals are still a matter of debate. En: Forensic Science International 2007. vol 173 p. 117-121



de heteroplasmía se presenta con mucha frecuencia en el fragmento homopolimérico de poli C en la región HVI.<sup>52</sup>

**Figura 7. Secuencia que presenta heteroplasmía de punto**



La heteroplasmía es un fenómeno que se debe tener en consideración a la hora de la interpretación de resultados en genética forense, donde se trata de determinar si las secuencias de mtDNA que se comparan provienen del mismo linaje. En el caso de que una de las muestras que se desea comparar presente la heteroplasmía, aunque no existan otras diferencias en la secuencia, es importante preguntarse si esta diferencia se debe a que las dos muestras provienen de linajes diferentes. Al respecto, Paneto et al recopilan información de la literatura e indican: “La ocurrencia de la heteroplasmia puede mejorar el valor de los análisis de ADN mt para propósitos forenses. Si un sospechoso y una muestra coinciden en todas las posiciones y comparten una heteroplasmia en la misma posición, la evidencia del ADNmt se refuerza. Sin embargo, si ambas muestras son homoplásmicas y difieren en un sitio, el resultado es inconcluyente y se deben realizar nuevas investigaciones”<sup>53</sup> aunque también hacen notar que esta interpretación ha sido cuestionada recientemente debido a que no es improbable, precisamente por el fenómeno de la heteroplasmía que un individuo pueda contener una diferencia de secuencia entre dos tipos de tejidos, por ejemplo.

<sup>52</sup> ALVAREZ, J.C. Op Cit.

<sup>53</sup> PANETO G. et al, Op Cit.

La frecuencia de heteroplasmías no es muy alta, ocurre en porcentajes entre el 2 y el 8% de la población según la descripción de Holland y Parson, sin embargo, en la población Colombiana no se dispone de este dato, que sería de gran utilidad a la hora de la interpretación de resultados en genética forense.

Entre los “puntos calientes” de mutación, se mencionó la 16189 en la región HVI del D-loop, donde una C es reemplazada por una T, cuando en esta posición se presenta la citosina, es muy difícil o casi imposible obtener la secuencia a partir de este punto. Por el contrario cuando la timina está presente es posible obtener la secuencia completa del fragmento. Entre los puntos calientes se encuentran las posiciones 16093 y 16129 de la región HVI I, así como el tracto de poliC de la región HVII que normalmente presenta heteroplasmia de longitud.<sup>54</sup>

Se ha observado que la heteroplasmia en individuos sanos es un evento cada vez más recurrente, lo cual se puede deber a la sensibilidad de los métodos de detección que se emplean hoy en día. Se han detectado diferentes niveles de heteroplasmia entre diferentes tejidos y dentro del mismo tejido del mismo individuo, así mismo, se ha encontrado evidencia de incremento de la tasa de heteroplasmia con la edad<sup>55</sup> razón por la cual, este fenómeno es ampliamente discutido a nivel forense<sup>56</sup> pues debe ser interpretado cuidadosamente para no llegar a falsas conclusiones.

### **1.3 METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL PARA USO FORENSE.**

En la mayoría de laboratorios forenses, se estudian las regiones hipervariables I y II del ADN mitocondrial debido a que exhiben la mayor variabilidad dentro del genoma mitocondrial,<sup>57</sup> recientemente se ha propuesto el análisis de la región hipervariable III o del genoma completo<sup>58, 59</sup>, con el fin de aumentar el poder de discriminación de este sistema.

---

<sup>54</sup> HOLLAND MM y PARSONS TJ. Op Cit

<sup>55</sup> CALLOWAY C et al. The Frequency of heteroplasmy in the HVII region of mtDNA differs across tissue types and increases with age. En: American Journal of Human Genetics 2000. vol 66 No.4 p. 1384-97

<sup>56</sup> BINI, C. y PAPPALARDO G. mtDNA HVI length heteroplasmic profile in different tissues of maternally related members. En: Forensic Science International. 2005. vol 152. p. 35-38

<sup>57</sup> PRINZ et al. DNA comisión of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). En: Forensic Science International: Genetics . 2007 . vol 1. p. 3-12

<sup>58</sup> ANDRESSON H et al. Forensic mitochondrial coding region análisis for increased discrimination using pyrosequencing technology. En: Forensic Science International: Genetics .2007. vol 1. p. 35-43

<sup>59</sup> NILSON M et al. Evaluation of mitochondrial DNA coding region assays for increased discrimination in forensic análisis. En: Forensic Science International: Genetics 2008. vol 2. p. 1 - 8

El análisis de las regiones HVI y HVII puede ser empleado en dos vías, a saber, con el fin de establecer la uniprocendencia de dos muestras biológicas, una muestra de referencia o conocida y una muestra dubitada, en casos de criminalística,(por ejemplo, si se dentro de la investigación judicial es útil establecer la uniprocendencia de un pelo hallado en la escena con un individuo indiciado) y con fines de **filiación** de individuos, por ejemplo en casos de fosas comunes, desastres masivos, restos óseos degradados.

El objetivo es comparar los haplotipos (Se denomina haplotipo al perfil de ADN mitocondrial<sup>60</sup>) obtenidos a partir de las muestras de referencia (en caso de identificación de individuos, las muestras de referencia son muestras tomadas a supuestos familiares por vía materna) y las evidencias o muestras dubitadas.

Por convención, una vez realizada la secuenciación de las regiones HVI y HVII de las muestras de interés, estas son alineadas y comparadas con una secuencia de referencia, la secuencia de referencia de Anderson<sup>61</sup> (ver figura 8), también llamada Secuencia de Referencia de Cambridge y se reporta el conjunto de cambios entre las muestras estudiadas y la secuencia de referencia.<sup>62</sup>

**Figura 8. Muestra secuenciada y alineada con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge**



En el ejemplo de la tabla 2 se encuentran ocho posiciones que exhiben diferencia en la secuencia con la Secuencia de Referencia de Cambridge, a su vez, tanto la

<sup>60</sup> GOODWIN W, et al. Op. Cit.

<sup>61</sup> ANDERSON S et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. En: [Nature](#). 1981. vol 290(5806) p. 457-65

<sup>62</sup> BUDOWLE B et al. Stabilizing mtDNA sequence nomenclature with an operationally efficient approach. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2008 vol 1.p. 671-673

muestra de referencia como la muestra dubitada poseen las mismas diferencias, es decir, tienen el mismo haplotipo

En la comunidad forense, generalmente se emplean estas reglas para concluir acerca de un análisis por ADN mitocondrial:

- a. Exclusión: si hay dos o más nucleótidos diferentes entre la muestra dubitada y la muestra de referencia. Las muestras se excluyen de provenir de la misma persona o de un familiar suyo por línea materna.
- b. Inconcluyente: si solamente se encuentra un nucleótido de diferencia entre la muestra de referencia y la muestra dubitada.
- c. No Exclusión: Si no existen diferencias de nucleótidos entre la muestra dubitada y la muestra de referencia.<sup>63</sup>

Siendo así, en casos de uniprocendencia, si el haplotipo presente en ambos tipos de muestras es idéntico se concluye que las muestras provienen del individuo al que se le tomó la muestra de referencia o de algún familiar de éste por línea materna. En casos de identificación la conclusión es similar, es decir el fluido biológico a identificar (generalmente restos óseos) proviene del individuo que se busca o de un familiar suyo por línea materna, pero es importante tener en cuenta la frecuencia del haplotipo en la población de estudio para asignar el peso de la prueba.

**Tabla 2. Ejemplo del análisis de dos muestras por ADN mitocondrial**

POSICIÓN	SECUENCIA DE REFERENCIA DE CAMBRIDGE	MUESTRA DE REFERENCIA	MUESTRA DUBITADA
16183	A	C	C
16189	T	C	C
16217	T	C	C
16350	A	G	G
73	A	G	G
152	T	C	C
263	A	G	G
315.1	-	C	C

<sup>63</sup> BUTLER J y COBLE M. NEAFS Y-mtDNA Workshop. 2006. Disponible en: <http://cstl.nist.gov/biotech/strbase/training.htm>

## 1.4 BASES DE DATOS DE ADN MITOCONDRIAL

Con el fin de conocer la estructura de las poblaciones respecto al ADN mitocondrial, se construyen bases de datos con las secuencias de cientos de muestras clasificadas por grupos étnicos o geográficos, esto permite determinar, entre otros, la frecuencia de los haplotipos en la población.

Estas bases son empleadas para la resolución de los casos estableciendo que tan frecuente es en la base de datos el haplotipo encontrado en el caso en cuestión, (esto es, contando el número de veces que un haplotipo en particular es observado en la base de datos)<sup>64</sup> lo que permite asignar el valor probatorio<sup>65</sup>, si el haplotipo es muy frecuente, el peso que asigne el juzgador a la prueba debería ser menor que si el haplotipo no se encuentra en la base de datos o es poco frecuente.

Las bases de datos son críticas para estimar las frecuencias esperadas, entre mayor sea el número de individuos no relacionados en la base de datos se pueden hacer mejores estimaciones estadísticas.<sup>66</sup> Goodwin et al, indican que cuando se emplean bases de datos de bajo número de muestras (por ejemplo de 100) existe la posibilidad de que los haplotipos menos frecuentes en la población no se vean representados.<sup>67</sup>

A nivel internacional existen bases de datos como MITOMAP<sup>68</sup>, en la cual se encuentra la secuencia completa del mtDNA humano, los loci determinados hasta el momento, referencias bibliográficas y polimorfismos encontrados, entre otros aspectos. Hasta el 30 de julio de 2009 se habían reportado 919 polimorfismos en la región control.

La base de datos de poblaciones de DNA mitocondrial del FBI (mtDNA Population Database)<sup>69</sup>, en la cual se almacenan, con propósitos forenses, diferencias en las secuencias de la región control con respecto a la secuencia de referencia de Cambridge para las regiones HVI(16024-16365) y HVII (73-340) en diversas

---

<sup>64</sup> BUDOWLE B. et al. Addressing the use of phylogenetics for Identification of Sequences in Error in the SWGDAM Mitochondrial Database. En: Journal of Forensic Sciences. 2004. vol 49 No. 6. p. 1256 - 61

<sup>65</sup> BRANDSTATTER Anita et al. Generating population data for the EMPOP database—An overview of the mtDNA sequencing and data evaluation processes considering 273 Austrian control region sequences as example. En: Forensic Science International. 2007. vol 166. p. 164–175

<sup>66</sup> BUTLER J y COBLE M. Op. Cit

<sup>67</sup> GOODWIN W et al. Op. Cit

<sup>68</sup> BRANDON M.C., MITOMAP: A human mitochondrial genome database – 2004 update. En: Nucleic Acids Research 33 (Database Issue):D611-613, 2005. Disponible en: <http://www.mitomap.org>

<sup>69</sup> MONSON K.L, The mtDNA Population Database: An Integrated Software and Database Resource for Forensic Comparison. En: Forensic Science Communications, 2002. Vol 4 No. 2. Base de datos disponible en: [www.fbi.gov/hq/lab/fsc/april2002/mtDNA.htm](http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/april2002/mtDNA.htm)

poblaciones como Afroamericanos (1148 secuencias), Caucásicos (1655) e Hispanos (686) (el número de secuencias publicadas fue consultado en julio 29 de 2009).

Se encuentra además la mtDB Human Mitochondrial Genome Data Base soportada por la Universidad de Upsala (Suecia), en la cual se reporta la secuencia completa de 1865 individuos y la secuencia de la región codificante en 839 individuos<sup>70</sup>(publicadas hasta julio 29 de 2009).

Así mismo, se encuentra disponible en la Web EMPOP Mitochondrial DNA Control Region Database, en este software, al igual que en la base de datos de ADN mitocondrial del FBI, es posible buscar un determinado haplotipo con el fin de encontrar coincidencias con secuencias de la región control almacenadas en la base. La base almacena 4527 secuencias forenses, 348 Africanas, 162 del Este de Asia, 187 del Sureste de Asia, 4476 del oeste de Asia (consultada en 2009-08-03), este es un proyecto colaborativo entre el Instituto de Medicina Legal y la Universidad de Innsbruck en Austria.<sup>71</sup>

## 1.5 DEFINICIÓN DE HAPLOGRUPOS

El análisis molecular de las secuencias de ADN mitocondrial ha mostrado que la variación de las mismas se ha acumulado secuencialmente a partir de algunos linajes fundadores, durante el proceso de colonización humana de las regiones geográficas<sup>72</sup>, por lo cual es posible establecer grupos de secuencias que se pueden asociar geográfica o étnicamente. A partir del análisis filogenético de los linajes mitocondriales se han identificado haplogrupos que son específicos para los Africanos, Europeos, Asiáticos o Amerindios.<sup>73</sup>

Los primeros estudios para el establecimiento de haplogrupos se llevaron a cabo con RFLPs de alta resolución y mostraron la existencia de cuatro haplogrupos específicos Europeos, denominados H, I, J, K.<sup>74</sup> En 1996, Torroni muestra que existe una correlación entre los haplogrupos definidos por RFLPs y las secuencias para HVI y HVII. Empleando este tipo de análisis conjunto, el autor confirmó la

---

<sup>70</sup> INGMAN, M. y GYLLENSTEN, U. mtDB: Human Mitochondrial Genome Database, a resource for population genetics and medical sciences. En: Nucleic Acids Res 2006. vol 34, D749-D751.

<sup>71</sup> PARSON WALTHER .Institute of Legal Medicine, Innsbruck Medical University. Austria. Disponible en [www.empop.org](http://www.empop.org)

<sup>72</sup> TORRONI A, et al. mtDNA Analysis Reveals a Major Late Paleolithic Population Expansion from Southwestern to Northeastern Europe. En: Am. J. Hum. Genet. 1998. vol. 62 p. 1137–1152

<sup>73</sup> ALVES-SILVA J et al. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages En: Am. J. Hum. Genet. 2000. vol 67. P. 444–461

<sup>74</sup> TORRONI , A. et al Op Cit.

presencia de los cuatro haplogrupos inicialmente definidos para Europa y se adicionaron los haplogrupos T, U, V, W, X. Los haplogrupos T, V y W resultaron asociados específicamente a un origen caucasoide, mientras que el U se comparte entre Europeos y Africanos, así mismo, el X se comparte entre Europeos y Amerindios del norte. También se han definido el M como Asiático y los L1 y L2 como Africanos.<sup>75</sup>

Torrioni en 1993 realiza el análisis por RFLPs y secuencia de la región control del ADN mitocondrial de 326 individuos provenientes de 17 poblaciones nativo americanas, en este estudio muestra que existe una correlación directa entre los cuatro haplogrupos definidos por RFLPs y la variación de secuencia de la región control. Se definen así cuatro haplogrupos fundadores Americanos denominados A, B, C, D.<sup>76</sup>

En 1998, Brown y colaboradores confirman la presencia del haplogrupo X en poblaciones Nativas Americanas, este se ha observado también en poblaciones Europeas.<sup>77</sup>

La identificación inicial por RFLPs y la distribución geográfica de los haplogrupos a nivel mundial que está establecida en mitomap<sup>78</sup> se muestra en la tabla a continuación:

**Tabla 3. Distribución Continental de Haplogrupos.**

Continente	Haplogrupo	Variantes de ADN mitocondrial
AFRICA	L	3592+ HpaI
EUROPE	H	7025- AluI
EUROPE	I	1715- DdeI; 10032+ AluI; 4529- HaeII; 8249+ AvaII; 16389+ BamHI/MboI
EUROPE	J	13704- BstNI; 16065- HinfI
EUROPE	K	9052- HaeII/HhaI
ASIA	A	663+ HaeIII
ASIA	B	8271-8281 9bp deletion; 16517+ HaeIII

<sup>75</sup> TORRONI. Et al. Op. Cit.

<sup>76</sup> TORRONI et Al. Asian Affinities and Continental Radiation of the Four Founding Native American mtDNAs. En: Am. J. Hum. Genet. 1993. vol 53. p.563-590

<sup>77</sup> BROWN M. et al. mtDNA Haplogroup X: An Ancient Link between Europe/Western Asia and North America ? En: Am. J. Hum. Genet. 1998. vol 63. p. 1852-1861

<sup>78</sup> BRANDON M.C., Op. Cit.

Continente	Haplogrupo	Variantes de ADN mitocondrial
ASIA	F	12406- HpaI/HincII; 16517+ HaeIII
ASIA	M	10394+ DdeI; 10397+ AluI
ASIA	M-C	13259-/13262+ HincII/AluI
ASIA	M-D	5176- AluI
AMERICA	A (Amerinds)	663+ HaeIII
AMERICA	A (Na-Dene)	663+ HaeIII; 16329- RsaI
AMERICA	B (Amerinds)	8271-8281 9bp deletion; 16517+ HaeIII
AMERICA	M-C (Amerinds)	13259-/13262+ HincII/AluI
AMERICA	M-D (Amerinds)	5176- AluI

Tomada de: MITOMAP. Disponible en [www.mitomap.org](http://www.mitomap.org). Consultada 2009-08-10

A nivel de secuencia, se han podido identificar posiciones de la región control y más recientemente del genoma mitocondrial completo que permiten clasificar las secuencias en haplogrupos. Aunque existe divergencia en los autores respecto a todas las posiciones que clasifican un haplogrupo, la mayoría coinciden en varias de ellas.

## 1.6 HISTORIA DEL POBLAMIENTO AMERICANO

Se ha demostrado por medio de evidencia fósil, arqueológica y de estudios genético poblacionales, que el origen de los humanos modernos tuvo lugar en África, durante la edad de piedra, lo cual se ha soportado además porque en este continente se encuentra el mayor grado de variabilidad genética.<sup>79, 80</sup> La evidencia por ADN mitocondrial sugiere que existió una única dispersión humana desde África por la costa sur hacia la India y posteriormente hacia el este de Asia y Australia.<sup>81</sup> (Ver figura 9)

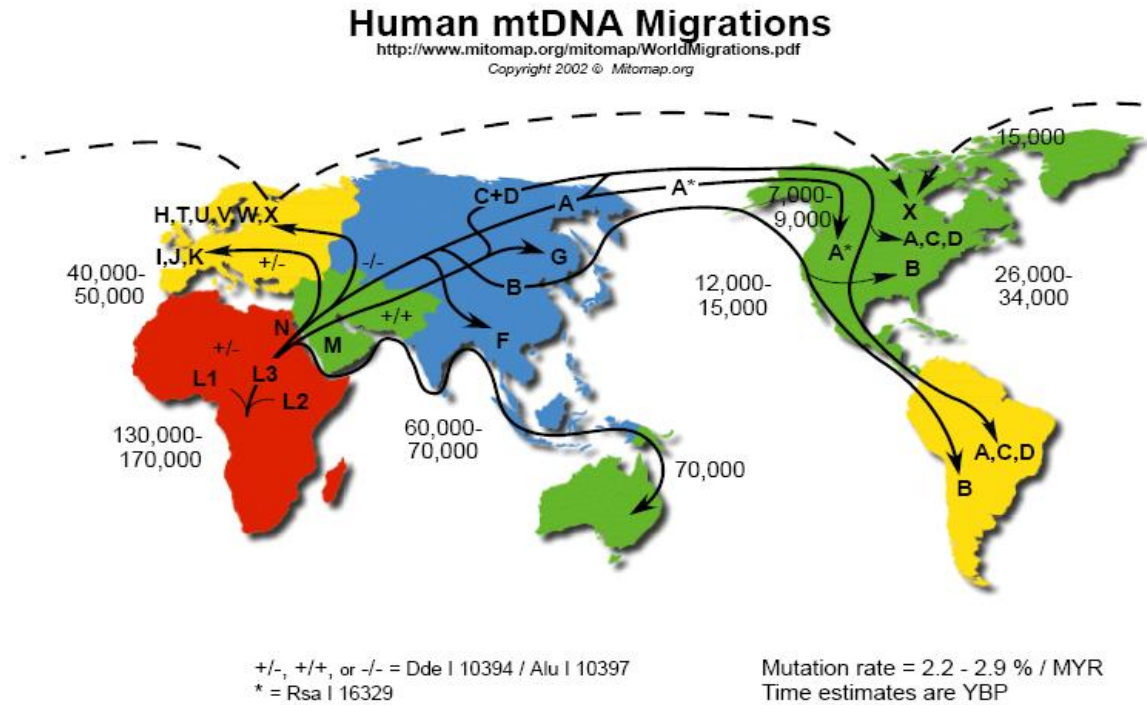
<sup>79</sup> JORDE L. B. The Distribution of Human Genetic Diversity: A Comparison of Mitochondrial, Autosomal, and Y-Chromosome Data En: Am. J. Hum. Genet. 2000. vol 66. p. 979-988

<sup>80</sup> SALAS, Antonio. The Making of the African mtDNA Landscape. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. vol 71 p. 1082-1111

<sup>81</sup> DERENKO Miroslava et al. Phylogeographic Analysis of Mitochondrial DNA in Northern Asian Populations. En The American Journal of Human Genetics. 2007. vol 81. p.1025-1041



**Figura 9. Ruta de las migraciones Humanas.**



Tomado de [www.mitomap.org](http://www.mitomap.org). Consultada 30-08-2009

América fue el último continente colonizado por los humanos<sup>82</sup>. Se ha postulado que durante la edad de hielo, el subcontinente siberiano se agrandó en extensión hacia el noreste debido a los bajos niveles de los mares de Bering y Chukchi, lo que creó un refugio en Bering que conectó Siberia con Alaska permitiendo así las migraciones humanas hacia el nuevo mundo.<sup>83</sup> La evidencia molecular tanto por ADN mitocondrial como de cromosoma Y apoya esta teoría dado que se encuentran algunos linajes presentes tanto en Siberia como en América.<sup>84</sup> Bonatto y Salzano<sup>85</sup> postulan que más que un corredor que permitió la migración

<sup>82</sup> ACHILLI, Alessandro et al. The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies. En: PLoS ONE 2008. vol. 3 No. 3 p. e1764. doi:10.1371/journal.pone.0001764

<sup>83</sup> VOLODKO, Natalia. et al. Mitochondrial Genome Diversity in Arctic Siberians, with Particular Reference to the Evolutionary History of Beringia and Pleistocenic Peopling of the Americas. En: The American Journal of Human Genetics 2008. vol.82. p. 1084-1100

<sup>84</sup> DERENKO Miroslava et al. Op. Cit.

<sup>85</sup> BONATTO Sandro y SALZANO, Francisco. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data En: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997. vol. 94. p. 1866-1871,

desde Asia, el estrecho de Bering fue el lugar donde la población que migró hacia América se estableció y se diversificó antes de la colonización del nuevo mundo.

Si bien diferentes autores coinciden en indicar el origen asiático de las poblaciones del nuevo mundo, existe controversia en el número de migraciones y el tiempo en el que ocurrieron. Soportados todos en estudios de diversidad del ADN mitocondrial en poblaciones Amerindias y Asiáticas; Bonatto y Salzano indican que hubo un único movimiento migracional<sup>86</sup>, mientras que Greenberg et al proponen tres eventos y Horai cuatro<sup>87</sup>.

Teniendo en cuenta el modelo de las tres migraciones sucesivas, Bailliet et al<sup>88</sup> explican que la primera colonización fue la de los Amerindios (paleo indios) seguidas por la de los Nadene y los Aleut Eskimo, esta clasificación está dada por las tres lenguas principales encontradas en América.

Sin importar el modelo migracional que se adopte, diferentes autores están de acuerdo en que en la población de nativos americanos clasifica dentro de cinco haplogrupos mitocondriales fundadores A, B, C, D y X<sup>89, 90, 91, 92, 93, 94</sup>.

La población nativa suramericana fue entonces mezclada con dos grupos étnicos más Europeos y africanos, luego de la conquista en el siglo XVI por parte de inmigrantes de la península Ibérica<sup>95</sup>. Rodríguez et al sostienen que los hombres fueron los responsables de la mayor parte de la mezcla con Europa debido al matrimonio selectivo entre hombres Europeos y mujeres Amerindias, puesto que en la conquista arribaron en su mayoría soldados voluntarios Españoles.<sup>96</sup>

---

<sup>86</sup> BONATTO, S. y SALZANO. Op. Cit

<sup>87</sup> KEYEUX, G et al. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA Studies in Colombian Amerindian Populations. En: Human Biology. 2002. Vol 74 No. 2. p. 211

<sup>88</sup> BAILLIET, Graciela et al. Founder Mitochondrial Haplotypes in Amerindian Populations En: Am. J. Hum. Genet. 1994. vol 54. p. 27-33

<sup>89</sup> TORRONI et al. Asian Affinities and Continental Radiation of the Four Founding Native American mtDNAs. Op. Cit

<sup>90</sup> ACHILLI, Alessandro et al. Op cit.

<sup>91</sup> SANDRO L. BONATTO y SALZANO Op. Cit

<sup>92</sup> SCHURR et al. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. Citado por: RIPAN S. et al. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. Vol 70. p. 905-919

<sup>93</sup> FORSTER P et al. Origin and evolution of native American mDNA variations a reappraisal. Citado por: RIPAN S. et al. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. Vol 70. p. 905-919

<sup>94</sup> BROWN M. Op. Cit

<sup>95</sup> MESA, Natalia R. Autosomal, mtDNA, and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre - and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America En: Am. J. Hum. Genet. 2000 vol 67. p :1277-1286

<sup>96</sup> RODRIGUEZ DELFIN, Luis A. Genetic Diversity in an Andean Population from Peru and Regional Migration Patterns of Amerindians in South America: Data from Y Chromosome and Mitochondrial DNA En: Hum Hered 2001. vol 51 p.97-106

Posteriormente, con el proceso de esclavitud, se instauró en el continente un importante número de población africana proveniente principalmente del Oeste, el Sureste de África y Angola (se estima que llegaron 12.5 millones de personas de esta región del África)<sup>97, 98</sup>,

## 1.7 HISTORIA DEL POBLAMIENTO DE LA REGIÓN CARIBE COLOMBIANA

Los vestigios arqueológicos hallados en el Caribe Colombiano, indican que en la época prehispánica, los pueblos indígenas se desplazaron a lo largo de esta región empleando los ríos Atrato, San Juan, Sinú San Jorge y Cauca, siguiendo una dirección norte-sur, desde el oriente hubo migraciones de pueblos de origen arawak y karib, se dio entonces interacción entre estos dos grupos lingüístico culturales haciendo frecuentes los mestizajes entre arawaks y karib.

A la llegada de los conquistadores la costa estaba habitada por diferentes grupos indígenas, los Tairona, Zenú, Chimila, Motilones, Guajiro y Caribes, Wayuu y los Arauaco.<sup>99</sup>

El cronista español Fernández de Oviedo indicó que en la región habitaban indios combatientes que llamó Caribes, dentro de esta clasificación se encontraban indígenas como los Chimila, Tairona, Guajiro, Zenú y Chocó, algunos de los cuales permanecieron en guerra a lo largo del periodo colonial, otros escaparon hacia lugares remotos como la Sierra Nevada de Santamarta.

Según Mathieu<sup>100</sup>, la población indígena del Caribe Colombiano, estaba compuesta por las siguientes tribus:

- Urabá: Que ocupaban el margen izquierdo del golfo de Uraba y la costa oriental del golfo.
- Sinú: Poblaban la costa atlántica desde los límites con los urabás hasta el golfo de morrosquillo y la cuenca del río Sinú, San Jorge, el Bajo Cauca y el río Nechi.

---

<sup>97</sup> SALAS Antonio. The Making of the African mtDNA Landscape Op. Cit.

<sup>98</sup> Curtin The Atlantic slave trade: a census. University of Wisconsin Press, Madison 1969. Citado por CARVAJAL-CARMONA Luis G., Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia En: Am. J. Hum. Genet. 2000. vol 67. p.1287–1295

<sup>99</sup> CINEP – COLCIENCIAS. Colombia, país de regiones. Tomo 1, Bogotá: CINEP, 1998. 312 p.

<sup>100</sup> MATHIEU Nicolas . Población Aborigen y Conquista. 1498 - 1540 . En: Historia Económica y Social del Caribe Colombiano. Bogotá: Ecoe Ediciones, 1994. 312p.

- Tolú: Ocupaban una zona de poca extensión alrededor de las costas del golfo de morrosquillo.
- Mocana: Provenían de dos provincias venezolanas, Maracapana y Caracas por lo que se sugiere ascendencia Caribe, se extendían desde Galerazamba hasta el río Magdalena, su centro geográfico era Cartagena.
- Coronados: Habitaban toda la costa del actual Atlántico.
- Malibus: Desde Tenerife hasta Tamalameque cubriendo la isla de mompos y penetrando en las cuencas del bajo San Jorge.
- Caribes “flecheros”: Ocupaban la costa entre el río Magdalena y las estribaciones occidentales de la sierra nevada de Santamarta.
- Tairona: Habitaban en las laderas y valles occidentales y septentrionales de la Sierra Nevada de Santamarta.
- Guanebucan: En la costa desde el cabo San Agustín (río palomino) hasta Riohacha.
- Guajiro y cocinas: Entre el cabo de la vela y bahía honda.
- Chimila: Se extendían prácticamente sobre todas las tierras bajas entre la Sierra nevada y el río Magdalena.
- Indios del corredor del río Cesar: Al sur de Riohacha los Burbures y Cendaguas y en Valledupar los Guanaos, Itoto y Aruak, en la sabana del cesar los Pacabuey, los Chiriguana y los Chimila y más al sur los perneo.

Como expresa el mismo autor, establecer el número de indígenas en el momento de la conquista es bastante difícil por las imprecisiones de los cronistas. Por un lado la escuela indigenista aumentaba el reporte del número de indígenas con el fin de realzar la disminución de la población causada por los españoles y por otro lado los conquistadores aumentaron el número de indios contra el cual lucharon o derrotaron, sin embargo, se puede establecer que vivían menos indígenas en la provincia de Cartagena que en la de Santamarta y que la población más densa sería la de los Malibú que vivían a ambos lados del río Magdalena, en la isla de Mompos, el bajo Cauca y el bajo San Jorge. El mismo autor menciona que *“las guerras de la conquista, la esclavitud de los indios, los trabajos, las crueldades y las enfermedades europeas, especialmente la viruela y el sarampión, diezmaron*

*rápida­mente la población indígena...lo ocurrido solo puede calificarse de una verdadera catástrofe demográfica*<sup>101</sup>

Al parecer en el siglo XVIII hubo un leve aumento demográfico, “*pero poco después, estos indios desaparecían absorbidos por el mestizaje*”

En la actualidad, según Mendoza et al<sup>102</sup>, en la región Caribe se encuentran las tribus indígenas Wayuu, Arhuaco, Yuko, Arzario, Kogui y Chimila. Los Wayuu, se ubican en la Guajira, los Arhuaco, Arzario y Kogui en la Sierra Nevada de Santa Marta, los Yuko – Yukpa en la Serranía del Perijá y los Chimila en las llanuras centrales de los departamentos de Magdalena y Cesar.

Con el proceso de la conquista, arribaron a la región individuos de origen español y con ellos esclavos africanos, Cartagena pronto se convirtió en el principal puerto para el comercio de esclavos que suministraban mano de obra para las plantaciones, la navegación fluvial y las tareas domésticas.

En Colombia cientos de africanos desembarcaron en Buenaventura, Gorgona y Barbacoas en el pacífico y en Cartagena, Santa Marta Riohacha Santa Marta, Tolu y el Darién en el atlántico. Las poblaciones ancestrales se originaban de diferentes grupos étnicos africanos del este y centro de África como los Congo, Bantú, Wolof, Yoruba, Fanti-Ashanti y otros<sup>103</sup>.

Según Friedemann<sup>104</sup>, la gente negra de Colombia descende de los individuos que llegaron con los conquistadores y de los miles de africanos que desde el siglo XVI desembarcaron como parte de la trata, oficialmente por Cartagena de Indias y de contrabando en Buenaventura, Chirambirá, Gorgona y Barbacoas y en el Atlántico en Santamarta, Tolú y el Darien.

Actualmente se encuentran afrocolombianos descendientes de africanos, en La Guajira, Magdalena, Atlántico, Bolívar, Córdoba, Cesar, Sucre y Antioquia. Aunque hay numerosos estudios con respecto al transporte durante la trata de africanos a América, no se conoce la cifra de personas que llegaron como tampoco la procedencia exacta. Se observan cifras desde 9 millones hasta 100 millones, para el caso colombiano la autora menciona referencias desde 120.000

---

<sup>101</sup> *Ibíd.*

<sup>102</sup> MENDOZA R et al. Terrenos de la Gran Expedición Humana. Serie Reportes de Investigación No. 6. Aspectos demográficos de las poblaciones indígenas, negras y asiladas visitadas por la Gran Expedición Humana. Bogotá: Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana. JAVEGRAF 1988.

<sup>103</sup> FRIEDEMANN, 1983. Citado por: RODAS C et al. Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and Mestizo Populations..En: Human Biology. 2003. Vol. 75 No. 1. P 13-30

<sup>104</sup> FRIEDEMANN N. La saga del Negro. Bogotá: Instituto de Genética Humana. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Javeriana. 1993

hasta 169.000 individuos. Con respecto a la procedencia, Nicolás del castillo en 1982<sup>105</sup>, describe diferentes lugares de origen según los periodos de tiempo así:

1. 1533-1580 Yolofos
2. 1580-1640 Angola y Congo
3. 1640-1703 Arará y Mina
4. 1703-1740 Arará y Carabalí
5. 1740-1811 Carabalí, Angola, Congo y Mozambique

Una vez establecida la población de esclavos africanos y de conquistadores españoles, se dio el proceso de mestizaje impulsado por los fenómenos sociales inmersos en el proceso de la conquista.

Los esclavos que lograban escapar se asentaron en los palenques, comunidades establecidas en regiones cenagosas del sur de la costa. En algunas provincias del sur de la costa se establecieron además poblaciones dispersas conformadas por esclavos, indígenas que huían de las encomiendas, desertores, fugitivos blancos lo que dio paso a un complejo patrón de mestizaje. Para finales del siglo XVIII se calculaba que más del 60% de los habitantes de la costa era mestizo<sup>106</sup>. Respecto al mestizaje, María del Carmen Borrego, expone que casi desde la conquista, el Caribe Colombiano presenta la coexistencia de tres etnias, los blancos, los indígenas y los negros<sup>107</sup>.

Otros autores se pronuncian en el mismo sentido, *“En la historia reciente, dos factores contribuyeron al cambio en la estructura de la población, la conquista Española y el comercio de esclavos promovido principalmente por Portugal, Inglaterra y España, como consecuencia la población nativa de Colombia ha sido reducida y mezclada con los grupos Europeos y Africanos”*<sup>108</sup>

Además, los registros históricos muestran que durante el periodo colonial (finales del siglo XV, comienzos del Siglo XVI), la mayoría de los inmigrantes eran hombres, Carvajal indica que por medio del estudio de marcadores uniparentales se ha podido establecer que en la población no amerindia Colombiana han desaparecido casi completamente los linajes masculinos amerindios, pero a nivel de ADN mitocondrial los linajes amerindios son predominantes, lo cual sugiere que los matrimonios en esa época eran predominantemente entre mujeres nativas y hombres inmigrantes a partir de estos se establecieron las poblaciones neo Americanas, esto en conjunto con el colapso de las poblaciones amerindicas en el

---

<sup>105</sup> Referenciado por FRIEDEMANN Op cit.

<sup>106</sup> POSADA D. Eduardo. El Caribe Colombiano Una historia Regional.(1870-1950). Bogotá: Banco de la República, El Ancora Editores, 1998. 507 p.

<sup>107</sup> BORREGO, María del Carmen. La Conformación de una Sociedad Mestiza en la Época de los Austrias. En: Historia Económica y Social del Caribe Colombiano. Bogotá: Ecoe Ediciones, 1994. 312p.

<sup>108</sup> ACOSTA M.P et al. The Genetic Male Component of two South Western Colombian Populations. En: Forensic Science International: Genetics.2009 vol 3 p. e59–e61

primer siglo de contacto, llevo a una “absorción” de las poblaciones nativas en las poblaciones criollas.<sup>109</sup> En este mismo sentido, Carvajal indica que la llegada de inmigrantes llevo al establecimiento de una población mezclada (criollos) y al declinamiento de la población amerindia.<sup>110</sup>

Según el DANE<sup>111</sup>, debido a que la información prehispánica se conservaba de forma oral, no se cuenta con documentos que presenten cifras exactas sobre la población. Sin embargo, en el II censo de población de 1777, se indica que la población total era de de 828.775 habitantes, estando el 80% de la población general conformada por blancos y mestizos, el 15% por indígenas y el 5% restante negros, lo cual confirma el fenómeno del exterminio indígena a manos de los conquistadores y el creciente modelo de mestizaje.

En el presente, Godinhom N et al<sup>112</sup> estiman, con el análisis de STRs nucleares que la contribución Europea, Africana y Amerindia a la población del Caribe Colombiano está distribuida así: 1.Europea: 40.5%, Africana 35% y Amerindia: 24.5%. Como se puede observar en el capítulo 3. Resultados, del presente estudio, esta composición varía cuando se tienen en cuenta exclusivamente el linaje materno. Sin embargo ambos resultados apoyan el patrón de la composición de la población en tres grandes grupos, amerindios, africanos y europeos.

En el Caribe Colombiano, según el censo de 2005<sup>113</sup>, en Colombia residen 87 pueblos de indígenas. En los departamentos del Caribe se tiene presencia de las etnias que se describen en la tabla 4.

**Tabla 4. Etnias presentes en la Región Caribe Colombiana**

DEPARTAMENTO	ETNIA
Atlántico	Mokana
Cesar	Arhuaco, Kogui, Wiwa, Yuko, Kankuamo
La Guajira	Arhuaco, Kogui, Wiwa, Wayuu
Magdalena	Arhuaco, Chimila, Kogui, Wiwa
Sucre	Senú,

<sup>109</sup> MESA R. Et al. Op. Cit.

<sup>110</sup> CARVAJAL Luis G. Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia En: Am. J. Hum. Genet. 2000. Vol 67 p.1287–1295

<sup>111</sup> ROMERO A et al. Los grupos étnicos en los censos de población. Colombia una Nación Multicultural, Su Diversidad Étnica. Bogotá: Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas. Dirección de censos y Demografía, 2007.

<sup>112</sup> GODINHO et al. Regional patterns of genetic admixture in South America En: Forensic Science International : Genetics Supplement Series. 2008. vol 1. p. 329–330

<sup>113</sup> Romero A et al. Op. Cit

Respecto a la población negra, actualmente en Colombia “se pueden diferenciar cuatro grupos importantes: los que se ubican en el corredor del pacífico colombiano, los raizales del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, la comunidad de San Basilio de Palenque [sic, por Palenque de San Basilio] y la población que reside en las cabeceras municipales o en las grandes ciudades”<sup>114</sup>. En el Caribe Colombiano, el departamento con mayor porcentaje de población afrocolombiana es el de Bolívar, que cuenta con la comunidad de Palenque de San Basilio de en el municipio de Mahates, así mismo, según el censo de 2005<sup>115</sup> Bolívar junto con Valle del Cauca y Antioquia son los departamentos que concentran el 50% de esta población. Debido al desplazamiento forzado, por las condiciones de violencia que vive nuestro país, el 29.2% de la población negra se ha desplazado a ciudades como Cartagena, Cali, Barranquilla, Medellín y Bogotá.

En cuanto a la migración de la población total residente, en la tabla 5, se observa el origen de procedencia de los flujos poblacionales para cada departamento de la región según el DANE<sup>116</sup>.

**Tabla 5. Flujos Poblacionales en la Región Caribe.**

DEPARTAMENTO	CLASIFICACIÓN SEGÚN LA MIGRACIÓN	DEPARTAMENTOS DE LOS QUE RECIBE POBLACIÓN (%)	DEPARTAMENTOS A LOS QUE EXPULSA POBLACIÓN (%)
Atlántico	Receptor	Bolívar 25.0% Magdalena 24.9% Sucre 9.7% Córdoba 8.2% César 5.9% Otros deptos 26.3%	Sin dato, se trata de un departamento receptor
Bolívar	Expulsor	Sin dato, se trata de un departamento expulsor	Atlántico 36.0% Bogotá 11.3% Magdalena 8.0% Sucre 7.2% Santander 7.1% Cesar 6.7% Antioquia 6.3% Córdoba 4.4% La Guajira 3.3% Otros deptos 9.7%
Cesar	Flujo Balanceado	Magdalena 26.0% N. Santander 16.9% Bolívar 11.5%	Magdalena 15.5% Santander 14.4% Bogotá 14.0%

<sup>114</sup> Ibíd.

<sup>115</sup> ROMERO et al. Op cit

<sup>116</sup> DEPARTAMENTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. DANE. Migración Interna en Colombia a partir del Censo General del 2005. Disponible en: [www.dane.gov.co](http://www.dane.gov.co) consultado marzo de 2007.



DEPARTAMENTO	CLASIFICACIÓN SEGÚN LA MIGRACIÓN	DEPARTAMENTOS DE LOS QUE RECIBE POBLACIÓN (%)	DEPARTAMENTOS A LOS QUE EXPULSA POBLACIÓN (%)
		La Guajira 11.3% Atlántico 6.1% Córdoba 2.3% Otros deptos: 25.9%	Atlántico 3.3% La Guajira 9.2% Bolívar 6.7% Nte Santander 11.1% Otros deptos: 15.8%
Córdoba	Expulsor	Antioquia 34.7% Bolívar 16.6% Atlántico 13.0% Bogotá 11.5% Sucre 10.5% La guajira 2.9% Magdalena 1.7% Cesar 1.5% Otros deptos: 7.6%	Sin dato, se trata de un departamento expulsor
La Guajira	Flujo Balanceado	Magdalena 23.2% Cesar 21.5% Atlántico 12.3% Bolívar 12.1% Córdoba 9.5% Sucre 5.6% Otros deptos: 15.8%	Cesar 28.5% Atlántico 18.6% Magdalena 15% Bogotá 11.9% Córdoba 3.2% Bolívar 5.9% Otros deptos:_ 16.9%
Magdalena	Expulsor	Atlántico 41.3% César 17.5% Bogotá 10.7% Bolívar 7.8% La Guajira 7.3% Otros deptos: 15.4%	Sin dato, se trata de un departamento expulsor
Sucre	Expulsor	Bolívar 27.1% Atlántico 23.1% Córdoba 13.7% Antioquia 10.4% Bogotá 9.8% Magdalena 3.2% La Guajira 2.5% Santander 2.4% Cesar 2.3% Otros deptos: 5.5%	

Cuatro de los siete departamentos de la región son clasificados como expulsores, esto es, en donde los flujos de población que recibe son menores a los flujos que expulsa, este comportamiento lo exhiben Córdoba, Sucre, Magdalena y Bolívar. Existe flujo balanceado en la Guajira y Cesar, es decir, el flujo de población que reciben es igual o muy similar al que expulsan. Atlántico es el único departamento clasificado como receptor en donde el flujo de población que recibe es mayor al que expulsa. Se observa que en general, el flujo de población migrante está dado al interior de la región.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se escogieron al azar 200 muestras de sangre en tarjeta FTA de individuos residentes en la Región Caribe Colombiana, que comprende los departamentos de Atlántico, Bolívar, Cesar, Sucre, Córdoba, Magdalena, La Guajira. La distribución del número de individuos se hizo teniendo en cuenta la contribución de población por departamento a la región Caribe, con las proyecciones de población del DANE para el año 2005.<sup>117</sup> Como se indica en la tabla 6. Se eliminó del estudio el Archipiélago de San Andrés y Providencia, pues según datos del DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística) la población del archipiélago contribuye solamente con un 0.80% del total de la región.

**Tabla 6. Porcentajes de contribución de población de cada departamento a la Región Caribe**

<i>DEPARTAMENTO</i>	<i>POBLACION PROYECTADA EN NUMERO DE HABITANTES</i>	<i>PORCENTAJE DE CONTRIBUCIÓN DEL DEPARTAMENTO A LA REGION</i>
ATLANTICO	2.370.753	23,86%
BOLIVAR	2.231.163	22,45%
CESAR	1.053.123	10,60%
SUCRE	870.219	8,76%
CORDOBA	1.396.764	14,06%
MAGDALENA	1.406.126	14,15%
GUAJIRA	526.148	5,29%

Como criterios de inclusión se tuvieron:

1. Que la muestra perteneciera a la base de datos del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses -Convenio ICBF.
2. Que el lugar de residencia del individuo al que se tomó la muestra fuera un departamento de la región hasta completar el número de muestras requerido por departamento.
3. Que se tratara de supuestos padres o madres en la base de datos hasta completar un 50% de hombres y un 50% de mujeres.

<sup>117</sup> A la fecha de la escogencia de las muestras, el DANE no había publicado los resultados finales del censo realizado en el año 2005, razón por la cual se tuvo en cuenta el número de habitantes según las proyecciones de población.

Como criterios de exclusión se tuvieron:

1. Que el individuo no hubiera firmado el consentimiento informado.
2. Que existiera un supuesto parentesco por vía materna de acuerdo con los apellidos registrados.

Con el fin de escoger las muestras, se estableció la siguiente metodología:

1. Revisión de la base de datos para determinar qué número de casos podrían contener muestras de individuos residentes en la región.
2. Asignación de números aleatorios a cada número de caso y escogencia de los casos que tuvieran los primeros 250 números por orden ascendente como posibles candidatos para selección de la muestra.
3. Revisión del archivo físico de los casos escogidos para verificar el lugar de residencia de los individuos y la firma del consentimiento informado.
4. Toma de datos de los individuos de las muestras inicialmente escogidas, nombres y apellidos, lugar de residencia, lugar de nacimiento, fecha de nacimiento, sexo.
5. Revisión de segundos apellidos para descartar aquellos que compartieran apellido materno.
6. Selección de 200 muestras.

De las 200 muestras se obtuvieron resultados de secuencia para 197.

## 2.2 DETERMINACIÓN DE HAPLOTIPOS

**2.2.1 Extracción de ADN.** Se empleó el Procedimiento Estandarizado de Trabajo “Extracción de ADN a partir de sangre usando resinas quelantes, código DG-SSF-DCF-M-PET02”<sup>118</sup> del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. La metodología consiste en adicionar la resina quelante tipo Chelex<sup>®</sup> 100 al 20% y lisar las células por ebullición para liberar el ADN. El Chelex<sup>®</sup> atrapa cationes que son liberados al medio al momento de someter el tejido a lisis y que pueden degradar el ADN pues pueden actuar como cofactores de endo y exo nucleasas.

Se siguieron los pasos descritos a continuación:

1. Cortar un fragmento de la tarjeta FTA e introducirlo en un tubo de 1.5ml.
2. Adicionar 1 ml de agua destilada, desionizada, estéril.

---

<sup>118</sup> Procedimiento Estandarizado de Trabajo desarrollado a partir del método descrito por : WALSH PS et al. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-Based typing from forensic material. En: Biotechniques. 1991 vol 10 No. 4 p.506-13

3. Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Centrifugar empleando entre 10.000 y 15.000 rpm por 5 min.
5. Descartar el sobrenadante.
6. Adicionar 170 ul de chelex<sup>®</sup> 100 al 20%.
7. Incubar por 30 min a 56° C.
8. Incubar por 8 min en ebullición
9. Centrifugar por 5 min a 10.000 – 15.000 rpm

En cada lote de reacción se empleó como control negativo un tubo con agua destilada, desionizada, estéril al que se le aplicó el mismo procedimiento que a las muestras. El procedimiento se realizó en cabina de flujo laminar.

**2.2.2 Amplificación de las regiones HVI y HVII.** Se amplificaron las regiones HVI y HVII en reacciones de PCR separadas. Para lo cual se utilizo el Procedimiento Estandarizado de Trabajo “Amplificación de los fragmentos HVI, HVI-A, HVI-b, HVII, HVII-a, HVII-B y asa de desplazamiento del ADN mitocondrial a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), código DG-SSF-DCF-M-PET30”<sup>119</sup>

Empleando los primers descritos en la tabla 7, la región del genoma mitocondrial amplificada se observa en la figura 10.

**Tabla 7. Primers empleados en la reacción de amplificación de las regiones HVI y HVII**

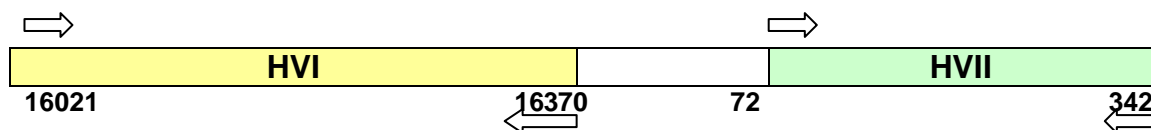
Nomenclatura	Posición dentro del genoma	Secuencia	Descrito originalmente por	Tamaño del fragmento Obtenido (pb)
A1	L15997	5`CACCATTAGCACCCAAAGCT3`	Vigilant et al <sup>120</sup>	436
B1	H16401	5`TGATTTCACGGAGGATGGTG3`	Vigilant et al	
C1	L048	5`CTCACGGGAGCTCTCCATGC3`	Wilson et al <sup>121</sup>	360
D1	H408	5`CTGTTAAAAGTGCATACCGCCA3`	Wilson et al	

<sup>119</sup> Procedimiento Estandarizado de Trabajo del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.

<sup>120</sup> VIGILANT L. et al. Mitochondrial DNA sequence in single hairs from a southern african population. En: Proc Natl Acad Sci. USA. 1989. Vol 86. p.935-954

<sup>121</sup> WILSON M y DIZINNO J.. Vatisation of mitochondrial DNA sequencing for forensic casework analysis. En: Int J Legal Med. 1995. vol 108 p. 68-74

**Figura 10. Regiones del ADN mitocondrial Amplificadas**



Ambas reacciones se realizaron bajo las siguientes condiciones de PCR:

**Tabla 8. Condiciones para la PCR**

REACTIVO	CANTIDAD EN $\mu$ L
Buffer STR 10X	1.25
BSA 40 mg/ml	1.25
Primers 5 pmol/ $\mu$ l	0.5
Taq polimerasa 5 U	0.5
ADN	0.5
Agua	8.5
Volumen final	12.5

Fueron empleados termocicladores Applied Biosystems® modelos 9700 o 2720, programados como se indica en la tabla 9.

**Tabla 9. Programa de Termociclaje**

CICLOS	TEMPERATURA	TIEMPO
1	95 ° C	1 minuto
36	95 ° C	10 segundos
36	60 ° C	30 segundos
36	72 ° C	30 segundos
1	72 ° C	7 minutos
1	4 ° C	Infinito

En cada lote de reacciones se amplificaron controles positivo y negativo, como control positivo se empleó ADN de la línea celular 9947 A y como negativo agua destilada, desionizada y estéril. Las muestras se procesaron en cabina de flujo laminar.

**2.2.3 Chequeo de la Amplificación.** Los primeros lotes de muestras amplificadas fueron chequeadas en geles de agarosa a los 2% corridos con buffer TBE 0.5X, teñidos con bromuro de etidio y visualizados con luz ultravioleta.

**2.2.4 Purificación del Producto Amplificado.** Con el fin de eliminar dNTPs o primers no incorporados así como  $MgCl_2$ , se emplearon microcolumnas de filtración Microcon YM 100®, las cuales poseen una membrana de celulosa con un tamaño de poro de 100.000 daltons, el producto amplificado no pasa por este tamaño de poro pero si lo hacen las moléculas más pequeñas. Todo el producto amplificado se colocó en la parte superior de la microcolumna con 550 ul de agua destilada, desionizada, estéril, posteriormente se centrifugó a 8000 rpm por 3 min, finalmente se recuperó el producto purificado invirtiendo la columna y centrifugando por 2 min a 8.000 rpm.

**2.2.5 Reacción de Secuencia.** Los productos amplificados de cada una de las regiones HVI y HVII se secuenciaron por ambas hebras, con el fin de reproducir los resultados para cada región hipervariable y para cada muestra, acogiendo las recomendaciones del SWGDAM<sup>122</sup> reiteradas por Yao Y-G y otros<sup>123</sup> (Scientific Working Group on DNA Analysis Methods.) Se generaron aproximadamente 900 reacciones de secuencia.

Se emplearon los primers A1, B1, C1, D1, descritos en la tabla No. 7 y la química de dideoxinucleótidos terminadores (ddNTP's) fluorados con el kit BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit V3.1®<sup>124</sup>. Por cada lote de reacciones, como control de calidad, se secuenció el control positivo y el control negativo previamente amplificados y las muestras fueron procesadas en cabina de flujo laminar para evitar contaminación de acuerdo con las recomendaciones de estándares en genética forense.<sup>125</sup>

La mezcla de reacción utilizada fue la siguiente:

---

<sup>122</sup> SWGDAM, Guidelines for mitochondrial DNA (mtDNA) nucleotide sequence interpretation. En: Forensic Sci. Commun 2003 vol. 5 [Online]. <http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2003/swgdammitodna.htm>

<sup>123</sup> YONG-GANG Yao et al. A call for mtDNA data quality control in forensic science. En: Forensic Science International 2004. vol 141 p.1-6

<sup>124</sup> Producido por Applied Biosystems.®

<sup>125</sup> SCHNEIDER, Peter . Scientific standards for studies in forensic genetics. En: Forensic Science International 2007. vol 165 p. 238-243

**Tabla 10. Mezcla empleada para la reacción de secuencia**

REACTIVO	CANTIDAD EN UL
Bigdye Terminator V 3.1 Sequencing Buffer (5X)	1
Terminator Ready Reaction Mix	2
Primer (A1 ó B ó C1 ó D1) 5pmol /ul	0.5
Producto Amplificado HVI ó HVII	3
Agua destilada, desionizada y estéril	3.5
Volumen final	10

Se emplearon termocicladores marca Applied Biosystems modelos 9700 y 2720, programados como se indica en la tabla 11, las muestras fueron procesadas en cabina de flujo laminar.

**Tabla 11. Condiciones de termociclaje para la reacción de secuencia**

CICLOS	TEMPERATURA	TIEMPO
1	96 ° C	1 minuto
25	96 ° C	10 segundos
25	50 ° C	5 segundos
25	60 ° C	4 minutos
1	4 ° C	Infinito

**2.2.6 Purificación de las secuencias.** De acuerdo con las recomendaciones del fabricante, las reacciones de secuencia se purificaron con el fin de remover los terminadores fluorados no incorporados, puesto que el exceso de estos puede interferir con la posterior asignación de las bases. Para purificar las secuencias se empleó la precipitación con Etanol/EDTA/Acetato de Sodio, siguiendo las instrucciones de la casa comercial Applied Biosystems<sup>126</sup>.

La técnica consistió en:

<sup>126</sup> Applied Biosystems. Bigdye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit. Protocol. 2002. Número de Parte 4337035. 2002

1. Preparar una mezcla de 1 ul de EDTA 125 mM y 1ul de acetato de sodio 3M
2. Adicionar 2 ul de la mezcla a cada tubo con la reacción de secuencia
3. Adicionar 25 ul de etanol absoluto a cada tubo
4. Mezclar por inversión
5. Incubar a temperatura ambiente protegido de la luz por 15 min
6. Centrifugar por 30 min a 8.000 rpm
7. Descartar el sobrenadante
8. Adicionar 35 ul de etanol al 70%
9. Centrifugar por 15 minutos a 8.000 rpm
10. Descartar el sobrenadante.

**2.2.7 Secuenciación Automática.** Una vez purificadas las reacciones de secuencia fueron resuspendidas en 15 ul de formamida y corridas por electroforesis capilar en los secuenciadores automáticos ABI PRISM 3100® o ABI PRISM 310®, empleando el polímero POP4® y capilares de 36cm X 50um. Bajo la aplicación Data Collection.<sup>127</sup>

**2.2.8 Asignación de bases y Alineamiento de las secuencias.** La asignación de las bases se hizo con el software Sequence Analysis<sup>128</sup>. Posteriormente, las secuencias de las cadenas pesada y liviana para la región HVI y para la región HVII fueron alineadas con la Secuencia de Referencia de Cambridge<sup>129</sup> por medio del software Seqscape V 2.5<sup>130</sup>, determinando así los cambios con respecto a esta secuencia para cada muestra.

## 2.3 ELABORACIÓN DE LA BASE DE DATOS

Se construyó una base de datos en Microsoft Office Excel® v. 2003 con las posiciones variables y la mutación detectada con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge para cada muestra, la revisión de los datos ingresados se hizo por duplicado y con dos lectores con el fin de evitar errores de transcripción.

---

<sup>127</sup> Software licenciado de la casa comercial Applied Biosystems®.

<sup>128</sup> Software licenciado de la casa comercial Applied Biosystems®

<sup>129</sup> ANDREWS, Richard M. et al., "Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA", Nature Genetics, 1999 vol 23, No. 2 p. 147

<sup>130</sup> Software licenciado de la casa comercial Applied Biosystems®



## 2.4 FRECUENCIAS DE HAPLOTIPOS, CAMBIOS CON RESPECTO A LA SECUENCIA DE REFERENCIA DE CAMBRIDGE, HETEROPLASMÍA

**2.4.1 Frecuencia de Haplotipos.** Cada haplotipo fue definido por el conjunto de cambios con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge. La estimación de la frecuencia se hizo por conteo a partir de la base de datos, para lo cual, las muestras se ordenaron de acuerdo con el número de cambios presentes, aquellas con igual número de cambios fueron evaluadas posición por posición para determinar la diferencia en los haplotipos y así establecer su frecuencia. El número total de haplotipos se corroboró calculando los índices de diversidad molecular por medio del programa Arlequin V 3.1<sup>131</sup>

**2.4.2 Tipos de Cambios.** A partir de la base de datos se contaron las posiciones que presentaron cambio con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge para las regiones HVI y HVII, posteriormente se determinó por conteo el tipo de cambio en cada posición, de esta forma se estableció el número de inserciones y deleciones, las transiciones fueron clasificadas de acuerdo al cambio presentado como A por G, G por A, C por T, T por C; las transversiones se clasificaron en G por C, C por G, A por T, T por A, A por C, C por A, G por T y T por G.

El número total de transiciones, transversiones y deleciones + inserciones se corroboró calculando los índices de diversidad molecular por medio del programa Arlequin V 3.1

**2.4.3 Frecuencia de heteroplasmía.** Las muestras en las que inicialmente se consideró heteroplasmía de punto o de longitud, fueron nuevamente procesadas desde la extracción de ADN para confirmar la presencia de este evento, una vez confirmadas se estimó la frecuencia por conteo directo a partir de la base de datos.

## 2.5 ESTIMADORES GENÉTICO POBLACIONALES

Los estimadores se calcularon empleando el Software Arlequin V 3.1 ingresando los haplotipos previamente definidos. Se empleó este software luego de haber realizado la revisión en la literatura acerca de los programas comúnmente empleados para este tipo de análisis (ver tabla 12).

---

<sup>131</sup> EXCOFFIER L. et al. Arlequin V 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG) Institute of Zoology University of Berne Disponible en: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>

**Tabla 12. Programas comúnmente empleados para el análisis genético poblacional de secuencias.**

Ítem	Programa Empleado	Autor	Población
1	ARLEQUIN, ADMIXTURE	Carvajal- Carmona (2000)	Antioquia
2	ARLEQUIN	Jorde L. B.,(2000)	Africa, Asia, Europa
3	ARLEQUIN	Salas, Antonio(2002)	Africanos
4	DNAsp	Lehocky ,Ivan (2008)	Eslovaquia
5	ARLEQUIN	Brandstatter, Anita (2007)	Austria
6	ARLEQUIN	Afonso (2008)	Bolivia
7	PAUP	Torrioni, Antonio (1993)	Nativos Amerindios
8	ARLEQUIN, STATISTICA, PHYLOGENETIC NETWORK	Derenko Miroslava (2007)	Asia
9	MEDIAN JOINING NETWORK	Cardoso (2008)	Nativos Ecuatorianos
10	The relationship (R) matrix de Harpending y Jenkins	Volodko Natalia V. (2008)	Asia
11	mtDNAMANAGER, ARLEQUIN	Sekiguchi Kazumasa (2008)	Japón
12	ARLEQUIN	Afonso C.(2008)	Sudan
13	NETWORK 2,0, TCS ARLEQUIN	Malhi Ripan S.(2002)	Nativos Norteamérica
14	Phylip, PAUP	Rickards O. (1999)	Indígenas Ecuatorianos
15	ARLEQUIN,GDA, GENETIX, DISPAN,RSTCALC, ADMIX	Mesa(2000)	Amerindios en Colombia
16	NJBOOT, SENDBS	Bonatto(1997)	Nativos Americanos
17	MEGA PAUP,DNAsp	Ingman Max (2003)	Australianos
18	NETWORK 2,0, ADMIX, SURFER	Mait Metspalu (2004)	Iran - India
19	ARLEQUIN	Lander(2008)	Caracas
20	ARLEQUIN	Jun Jin (2006)	Corea
21	ARLEQUIN	Bini Carla (2008)	Norte de Italia
22	DNAsp V3,0	Lehocky Ivan (2008)	Slovakia
23	ARLEQUIN	Alvarez J. Carlos (2007)	España
24	ARLEQUIN	Hedman M (2007)	Finlandia
25	ARLEQUIN NETWORK 2,0	Helgason A(2000)	Islandia
26	ARLEQUIN	Brisighelli F. (2008)	Península Itálica
27	DNAsp V3,2	Silva W. (2002)	Nativos Americanos

**2.5.1 Diversidad Génica:** Es el equivalente a la heterocigocidad esperada para datos diploides, se define como la probabilidad de que dos haplotipos escogidos aleatoriamente sean diferentes en la muestra, se calculó según Nei, 1987 así:

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1} \left( 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

Donde:

n = número de copias génicas en la muestra

k = número de haplotipos

P<sub>i</sub>=frecuencia del i-th haplotipo

**2.5.2 Promedio del Número de Diferencias Pareadas ( $\pi$ ):** Es el número promedio de diferencias entre todos los pares de haplotipos en la muestra. Se calculó según Tajima 1983 de acuerdo con la fórmula:

$$\hat{\pi} = \frac{n}{n-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k p_i p_j \hat{d}_{ij}$$

Donde:

$\hat{d}_{ij}$  = Estimador del número de mutaciones que han ocurrido desde la divergencia de los haplotipos *i* e *j*

K = Número de haplotipos

P<sub>i</sub> = Frecuencia del haplotipo *i*

P<sub>j</sub> = Frecuencia del haplotipo *j*

N= Tamaño de la muestra

La varianza, calculada según Tajima 1993, está dada por:

$$V(\hat{\pi}_n) = \frac{3n(n+1)\hat{\pi} + 2(n^2 + n + 3)\hat{\pi}^2}{11(n^2 - 7n + 6)}$$

Con desviación estándar:

$$s.d(\hat{\pi}_n) = \sqrt{V(\pi_n)}$$

**2.5.3 Diversidad Nucleotídica sobre L loci:** Es la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos escogidos al azar sean diferentes, fue calculada según Tajima 1983 así:

$$\hat{\pi}_n = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j(i)}^k p_i p_j \hat{d}_{ij}}{L}$$

Su varianza:

$$V(\hat{\pi}_n) = \frac{n+1}{3(n+1)L} \hat{\pi}_n + \frac{2(n^2+n+3)}{9n(n-1)} \hat{\pi}_n^2$$

Con desviación Estándar:

$$s.d(\hat{\pi}_n) = \sqrt{V(\hat{\pi}_n)}$$

**2.5.4 Probabilidad de coincidencia o RMP (Random Match Probability) :** Es la probabilidad de que dos individuos al azar tengan el mismo haplotipo, fue calculada según Stoneking (1991)<sup>132</sup> como:

$$P = \left( \sum_{i=1}^k X_i^2 \right)$$

Donde:

$X_i$  es la frecuencia de cada haplotipo.

---

<sup>132</sup> STONEKING M et al. Population Variation of Human mtDNA Control Region Sequences Detected by enzimática Amplification and Sequence-specific oligonucleotide probes. En: American Journal of Human Genetics. 1991. vol 48 p.370-382.

## 2.6 ANÁLISIS MOLECULAR DE VARIANZA (AMOVA):

Se calculó comparando los departamentos Atlántico, Bolívar, Cesar, Córdoba, La Guajira, Magdalena y Sucre, considerándolos dentro de un solo grupo.

## 2.7 ANALISIS GRÁFICO DE DISTANCIAS GENÉTICAS

Se realizó una matriz de similaridad entre todos los departamentos a partir de las distancias genéticas Pairwise, calculadas en el programa Arlequin V 3.1. La clusterización se hizo con el algoritmo UPGMA (Unweigh Pair Group Medium Arithmetic) que según Rodas M C. es el más frecuentemente empleado. *“El agrupamiento comienza con la distancia más pequeña y a partir de ésta se construye el árbol. Luego se calcula la similitud promedio de las restantes poblaciones.”*<sup>133</sup>

## 2.8 CLASIFICACIÓN DE LAS SECUENCIAS EN HAPLOGRUPOS

Se clasificaron inicialmente las secuencias teniendo en cuenta las posiciones que definen los haplogrupos del ADN mitocondrial descritas por Torroni, Brown, Alvarez y Salas (ver tabla 13). Las secuencias agrupadas en la categoría “sin clasificar” fueron ingresadas en el software “mtDNAManager”<sup>134</sup> disponible en <http://mtmanager.yonsei.ac.kr> el cual estima el haplogrupo más probable a partir de los cambios detectados en la región control.

**Tabla 13. Cambios en las posiciones HVI – HVII que definen haplogrupos**

Haplogrupo	Continente	Posiciones del ADN mitocondrial	Referencia
A	Americano	16362C, 16319A, 16290T, 16223T	1
B	Americano	16217C, 16189C	1
C	Americano	16327T, 16298C, 16223T	1
D	Americano	16362C, 16223T	1

<sup>133</sup> RODAS PEREZ, M.C. Análisis Genético Molecular de los Haplogrupos Fundadores del DNA mitocondrial en América en Poblaciones Colombianas. Trabajo de Grado. Magister en Biología con énfasis en Genética. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana . Facultad de Ciencias. 1997.

<sup>134</sup> LEE, H.W et al. mtDNAManager: a Web-based tool for the Management and Quality Análisis of Mitochondrial DNA- control-region sequences. En: BMC Bioinformatics. 2008 vol 9 p.483

Haplogrupo	Continente	Posiciones del ADN mitocondrial	Referencia
X	Americano	16189C, 16223T, 16278T	2
H	Europeo	73A	3.
I	Europeo	16129A,16223T,199C, 204C, 250C	3
J	Europeo	16069T16126C295T	3
K	Europeo	16224C16311C	3
M1	Europeo	16129A , 16189C, 16223T, 16294C, 16311C	3
T	Europeo	16126C, 16294T	3
V	Europeo	16298C	3
W	Europeo	16223T, 16292T, 195C, 204C, 207A	3
L1	Africano	16187T,16189C, 16223T, 16278T, 16311C	4
L0a	Africano	16129A, 16148T, 16172C, 16187T, 16188G, 16189C, 16223T, 16230G, 16311C, 16320T	4
L0a1	Africano	16129A, 16148T, 16168T, 16172C, 16187T, 16188G, 16189C ,16223T, 16230G, 16311C, 16320T	4
L0a2	Africano	16148T, 16172C, 16187T, 16188G, 16189C, 16223T, 16230G, 16311C, 16320T	4
L0d	Africano	16129 <sup>a</sup> , 16187T, 16189C, 16223T, 16230G, 16243C, 16311C	4
L1b	Africano	16126C, 16187T, 16189C, 16223T, 16264T, 16270T, 16278T, 16311C	4
L1c	Africano	16129A, 16187T, 16189C, 16223T, 16278T, 16294T, 16311C, 16360T	4
L1c1	Africano	16129A, 16187T, 16189C, 16223T, 16278T, 16293G, 16294T, 16311C, 16360T	4
L1c2	Africano	16129A, 16187T, 16189C, 16223T, 16265C, 16278T, 16286G, 16294T, 16311C, 16360T	4
L1c3	Africano	16129A, 16189C, 16215G, 16223T, 16278T, 16294T, 16311C, 16360T	4
L3	Africano	16223T	4
L3b	Africano	16124C, 16223T, 16278T, 16362C	4

Haplogrupo	Continente	Posiciones del ADN mitocondrial	Referencia
L3d	Africano	16124C, 16223T	4
L3e1	Africano	16223T, 16327T	4
L3e1a	Africano	16185T, 16223T, 16327T	4
L3e1b	Africano	16223T, 16325D, 16327T	4
L3e2	Africano	16223T, 16320T	4
L3e2b	Africano	16172C, 16189C, 16223T, 16320T	4
L3e3	Africano	16223T, 16265T	4
L3e4	Africano	16223T, 16264T	4
L3f	Africano	16209C, 16223T, 16311C	4
L3g	Africano	16223T, 16293T, 16311C, 16355T, 16362C	4

Referencias: **1.** TORRONI A. et al. Asian Affinities and Continental Radiation of the Four Founding Native American mtDNAs. En: Am. J. Hum. Genet. 1993. vol 53. p. 563-590. **2.** BROWN D et al. mtDNA Haplogroup X: An Ancient Link between Europe / Western Asia and North America? En: Am. J. Hum. Genet. 1998 vol 63 p.1852–1861 **3.** ALVAREZ J. C. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine. 2007. vol 9. p. 293–304 **4** SALAS A et al. The African Diaspora: Mitochondrial DNA and the Atlantic Slave Trade. En: Am. J. Hum. Genet. 2004. vol 74. p.454–465  
Nota: Se excluyen los haplogrupos que están definidos por posiciones fuera del rango HVI – HVII.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1 DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA

**3.1.1 Por departamentos de la región.** En total se obtuvieron resultados para 197 muestras distribuidas en los departamentos como se observa en la figura 11.

**Figura 11. Distribución de la muestra por departamentos\***



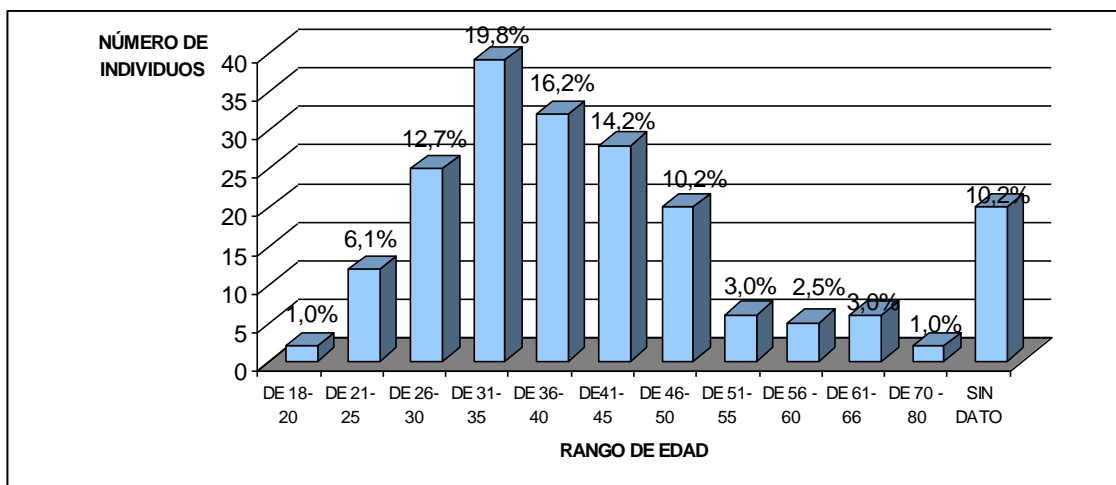
\* Adaptada de <http://www.todacolombia.com/geografia/mapascolombianos.html>



**3.1.2 Por sexo.** Se obtuvieron resultados para 100 mujeres que representan el 51% del total de la muestra y 97 hombres que representan el 49%. En el momento de escogencia de la muestra, se incluyeron 100 hombres y 100 mujeres para tener la misma representación en ambos sexos; se lograron obtener resultados de secuencia para 97 hombres por lo cual la distribución final fue 51% mujeres, 49% hombres.

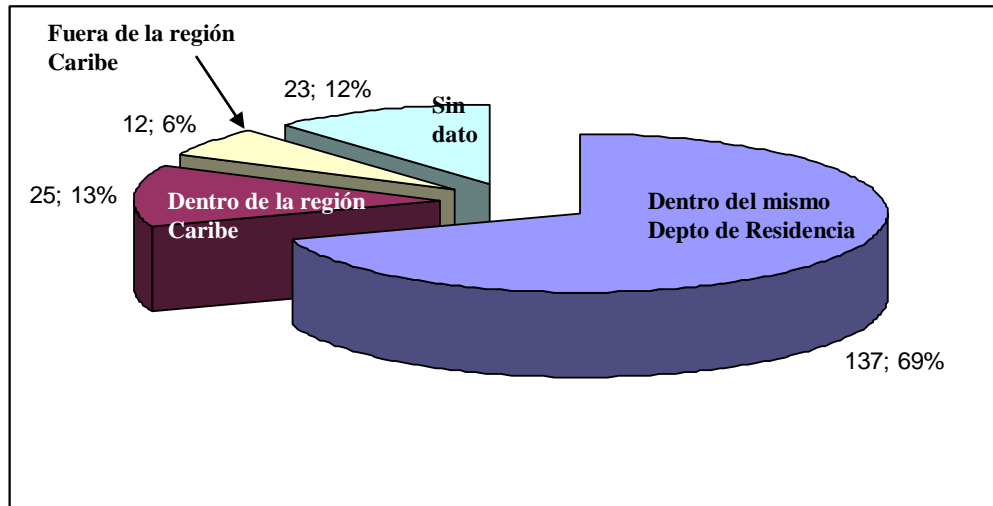
**3.1.3 Por Grupo etario.** La muestra incluyó individuos desde los 18 años hasta los 80. La distribución de los individuos por edades se observa en la figura 11. La categoría con el mayor número de individuos fue de 31 a 35 años con 39 muestras y las que tuvieron el menor número de individuos fueron de 18 a 20 y de 70 a 80 con dos muestras cada una. Esta distribución se explica debido a que las muestras fueron tomadas del banco de muestras de casos de paternidad dentro del marco del convenio ICBF-INMLCF; En este se espera que se distribuyan dentro del rango de edad reproductiva. El 10.2% sin dato corresponde a que no se encontró la copia del documento de identidad en los registros de esos casos.(ver figura 12).

**Figura 12. Distribución de la muestra por rangos de edad.**



**3.1.4 Por lugar de nacimiento.** La mayoría de las personas muestreadas nació en el mismo departamento de residencia actual (69%), un 13% nació en otro departamento de la región Caribe y solamente un 6% del total de la muestra reside en la región Caribe pero nació en una región geográfica diferente del país. En cada uno de los departamentos se presentó una situación similar. Dentro de este estudio no se incluyó ningún extranjero residente en la región. (Ver figura 13)

**Figura 13. Lugar de Nacimiento de los individuos muestreados**



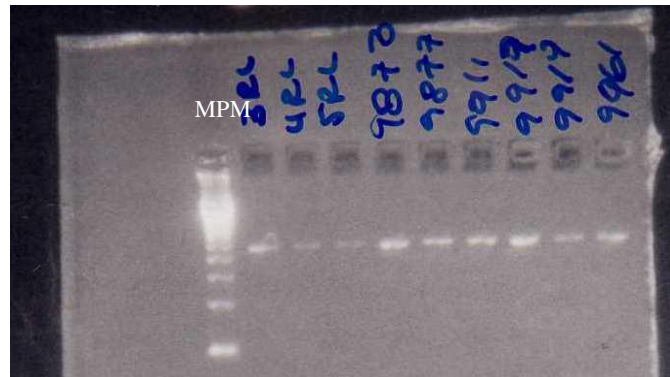
Comparados los resultados de residencia vs lugar de nacimiento en la muestra contra los resultados presentados por el DANE en el censo del 2005, se observa una situación similar, según el censo<sup>135</sup>, el 83.2% de las personas residentes en los departamentos de la región Caribe nacieron en el mismo departamento, el 10.2% nacieron en otro departamento de la misma región y solamente un 6.6% nacieron en una región diferente del país ( $p=0.183$ ).

### 3.2 CHEQUEO DE LA AMPLIFICACIÓN

En las figuras 14 y 15 se muestran los resultados del chequeo de la amplificación para cada una de las regiones.

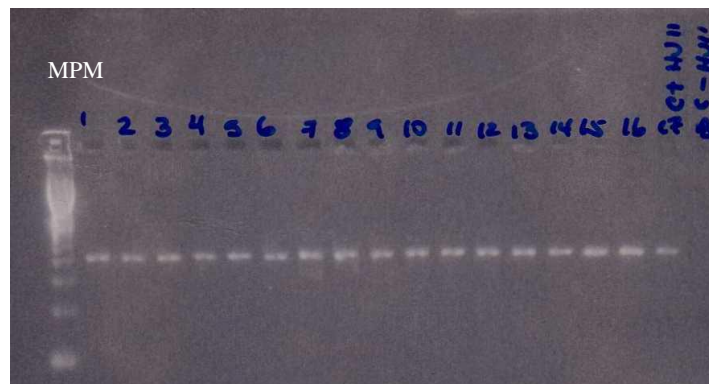
<sup>135</sup> Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Cuadro Censo 2005. Cuadro 4.9 Población total censada, por departamento de nacimiento, según departamento de residencia actual. Disponible en: <http://www.dane.gov.co/censo/files/cuadros%20censo%202005.xls>, consultada 2009-09-08

**Figura 14. Chequeo de amplificación de la región HVI en gel de agarosa**



MPM: Marcador de Peso Molecular

**Figura 15. Chequeo de amplificación de la región HVII en gel de agarosa**



### **3.3 FRECUENCIA DE LOS HAPLOTIPOS**

Teniendo en cuenta las diferencias de cada secuencia con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge para las regiones hipervariables I y II, se encontraron 143 haplotipos; 119 únicos y 24 que se repiten en las 197 muestras analizadas. Los dos haplotipos que presentan mayor frecuencia se encontraron en 10 de las 197 muestras, cada uno; en términos de porcentaje esto equivale a un 5%. Los haplotipos únicos representan cada uno el 0.05%.

En la tabla 14 se presentan las frecuencias haplotípicas encontradas. En el Anexo A se observan todos los haplotipos indicando las posiciones que presentaron diferencia con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge con sus respectivas frecuencias.

**Tabla 14. Frecuencias haplotípicas observadas**

<b>NÚMERO DEL HAPLOTIPO</b>	<b>NÚMERO DE MUESTRAS QUE LO PRESENTAN</b>	<b>FRECUENCIA</b>
121	10	0.0508
130	10	0.0508
34	5	0.0254
71	5	0.0254
51	4	0.0203
138	4	0.0203
18	3	0.0152
53	3	0.0152
87	3	0.0152
117	3	0.0152
8	2	0.0102
19	2	0.0102
24	2	0.0102
25	2	0.0102
42	2	0.0102
48	2	0.0102
57	2	0.0102
58	2	0.0102
59	2	0.0102
65	2	0.0102
69	2	0.0102
76	2	0.0102
78	2	0.0102
139	2	0.0102
Únicos	119	0.0051*

\*: Frecuencia de cada haplotipo único

Con respecto a los haplotipos más frecuentes, el Número 121 que se repite en diez muestras está distribuido en los departamentos de Córdoba con 4 individuos, Atlántico con 3, Bolívar con 2 y Cesar con 1 individuo, de la misma forma, el haplotipo No. 130 se encuentra distribuido en los departamentos de Córdoba con 3 individuos, Magdalena con 2, Bolívar con 3, Atlántico con 1 y Sucre con 1.

En la Tabla 15, se muestra la comparación de los resultados obtenidos con estudios similares en otras poblaciones.

**Tabla 15. Comparación del porcentaje de haplotipos con otros estudios**

<b>POBLACIÓN (N), REFERENCIA</b>	<b>PORCENTAJE DE HAPLOTIPOS ÚNICOS</b>	<b>PORCENTAJE DE HAPLOTIPOS QUE SE PRESENTAN EN MÁS DE UN INDIVIDUO</b>	<b>PORCENTAJE DEL HAPLOTIPO MÁS FRECUENTE</b>
Caribe Colombiano (197),1	60%	12%	5%
Cundiboyacense-Colombia (100),2	69%	9%	6%
Antioquia - Colombia (99),3	70%	9%	6%
Caracas- Venezuela (100),4	65%	10%	10%
Bolivia (111),5	84%	5%	Sin Dato
España (312),6	60%	11%	8%
Alemania (213),7	70%	12%	3%
Eslovaquia(374),8	64%	12%	3%
Finlandia(200) ,9	52%	15%	4%
Japón (1204),10	49%	13%	3%
Corea (185),11	82%	9%	2%
Malasia(205),12	56%	18%	3%

Referencias: **1.** Presente Estudio. **2.** MORA C, Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyacense. Trabajo de grado Magister en Ciencias Biológicas 2008. **3.** ROMERO A. Determinación de los Polimorfismos de Secuencia de las Regiones Hipervariables I Y II del ADN Mitocondrial Humano y Establecimiento de una Base de Datos para Uso Forense. Trabajo de Grado Biología. Universidad del Tolima. 2007 **4.** LANDER N. et al. Haplotype diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I–III in the city of Caracas (Venezuela). En: Forensic Science International: Genetics 2008 vol 2. e61–e64 **5.** COSTA A. et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series vol 1 2008 p. 259–261. **6.** ALVAREZ J.C. et al. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine 2007 vol 9 p. 293–304 **7.** TETZLAFF S. et al. Mitochondrial DNA population data of HVS-I and HVS-II sequences from a northeast German sample En: Forensic Science International 2007 vol. 172 p. 218–224 **8.** LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59. **9.** HEDMAN, M. et al. Finnish mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II population data En: Forensic Science International 2007 vol 172 p.171–178 **10.** SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286 **11.** JUN JIN, H. et al. Forensic genetic analysis of mitochondrial DNA hypervariable region I/II sequences: An expanded Korean population database. En: Forensic Science International 2006. vol 158 p.125–130 **12.** WONG Y. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 205 Singapore Malays. En: Legal Medicine 2007. Vol 9 p. 33–37

Se observa que el porcentaje de haplotipos únicos encontrado en la población Caribe Colombiana es ligeramente más bajo que el reportado para

las poblaciones Cundiboyacense<sup>136</sup> y Antioqueña<sup>137</sup> lo cual se puede deber al incremento en el número de muestra ya que en el presente estudio se trabajaron casi el doble de muestras que las trabajadas para estas poblaciones, lo que podría incrementar el número de haplotipos que se presentan en al menos dos individuos. En general, este porcentaje es similar al reportado en los estudios con otras poblaciones, con excepción de Bolivia<sup>138</sup>, en donde es mucho mayor (84%) y Japón<sup>139</sup> en donde desciende al 49%, una vez más es posible que el tamaño de muestra influya en este valor, se puede observar que el análisis en la población Japonesa fue hecho con 1204 individuos. Estos resultados indican la necesidad de aumentar constantemente el tamaño de las bases de datos con fines forenses, con el propósito de conocer la composición haplotípica de una forma más aproximada a la realidad de la población.

Con respecto al porcentaje de los haplotipos más frecuentes, este se encuentra en concordancia con dos estudios colombianos reportados para las poblaciones Cundiboyacense<sup>140</sup> (6%) y Antioqueña<sup>141</sup> (6%) y es más bajo que el reportado para Venezuela<sup>142</sup> (8%) y España<sup>143</sup> (10%), sin embargo es ligeramente mayor que el reportado para otras poblaciones como Eslovaquia<sup>144</sup>, Korea<sup>145</sup> y Japón<sup>146</sup>. Si bien los valores no muestran grandes diferencias, llama la atención la menor frecuencia de los haplotipos más comunes en las poblaciones asiáticas, esto podría reflejar las diferencias de tiempo en la historia del poblamiento asiático y americano, si se tiene en cuenta que el nuevo mundo fue poblado más recientemente por lo cual los asentamientos humanos en Asia han podido acumular mayor número de mutaciones.

---

<sup>136</sup> MORA C, Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyacense. Trabajo de grado Magister en Ciencias Biológicas 2008

<sup>137</sup> ROMERO A. Determinación de los Polimorfismos de Secuencia de las Regiones Hipervariables I Y II del ADN Mitocondrial Humano y Establecimiento de una Base de Datos para Uso Forense. Trabajo de Grado Biología. Universidad del Tolima. 2007

<sup>138</sup> COSTA A. et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series vol 1 2008 p. 259–261.

<sup>139</sup> SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286

<sup>140</sup> MORA C. Op. Cit

<sup>141</sup> ROMERO A. Op. Cit

<sup>142</sup> LANDER N. et al. Haplotype. diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I–III in the city of Caracas (Venezuela). En: Forensic Science International: Genetics 2008 vol 2. e61–e64

<sup>143</sup> ALVAREZ J.C. et al. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine 2007 vol 9 p. 293–304

<sup>144</sup> LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59

<sup>145</sup> JUN JIN, H. et al. Forensic genetic analysis of mitochondrial DNA hypervariable region I/II sequences: An expanded Korean population database. En: Forensic Science International 2006. vol 158 p.125–130

<sup>146</sup> SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286

En la tabla 16 se presentan las frecuencias de los haplotipos por departamento.

**Tabla 16. Frecuencia de haplotipos por departamento**

<b>DEPARTAMENTO(N)</b>	<b>NUMERO DEL HAPLOTIPO</b>	<b>NÚMERO DE MUESTRAS QUE LO PRESENTAN</b>	<b>FRECUENCIA DENTRO DEL DEPARTAMENTO</b>
Atlántico(47)	130	3	0.064
	59	2	0.042
	69	2	0.042
	139	2	0.042
	Únicos	38	0.808*
Bolívar(45)	121	3	0.066
	18	2	0.044
	65	2	0.044
	87	2	0.044
	130	2	0.044
	138	2	0.044
	Únicos	32	0.704*
Cesar(22)	Únicos	22	1.000*
Córdoba(28)	130	4	0.143
	121	3	0.107
	53	2	0.071
	Únicos	19	0.678*
La Guajira (10)	Únicos	10	1.000
Magdalena (27)	121	2	0.074
	Únicos	25	0.925*
Sucre(18)	24	2	0.111
	34	2	0.111
	78	2	0.111
	Únicos	12	0.666*

\*: Este valor es la suma de las frecuencias de los haplotipos únicos.

La frecuencia más alta se encontró en Córdoba departamento en el que se observaron 4 haplotipos que se repiten lo cual representa una frecuencia de 0.143. Cesar y La Guajira exhibieron solamente haplotipos únicos.

### **3.4 TIPOS DE CAMBIOS CON RESPECTO A LA SECUENCIA DE REFERENCIA DE CAMBRIDGE OBSERVADOS**

Se encontraron 152 posiciones en las regiones HVI y HVII que exhibieron algún tipo de cambio con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge. En HVI 100 posiciones lo que representa el 65.8% del total de posiciones y en HVII 52 posiciones lo que representa el 34.2% del total. En

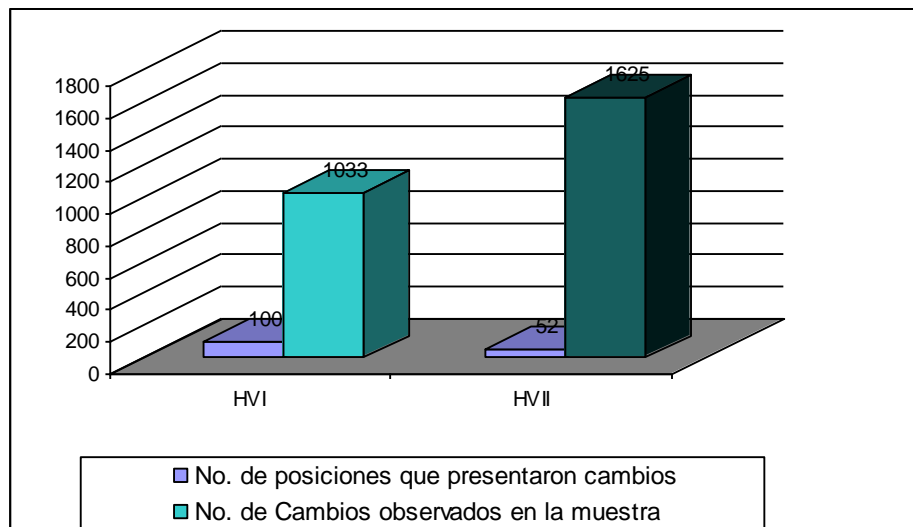
las 197 muestras se presentaron 1.033 cambios en HVI lo que corresponde al 38.9% y 1.625 cambios en HVII (61.1%).

Esto indica que en HVI se detectó la mayor cantidad de posiciones polimórficas pero las muestras presentan con menor frecuencia cambios en esta región, comparadas con HVII. (ver figura No 16).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos para la población Cundi-Boyasence en el cual se presentaron mayores sitios de cambio en HVI (60.44%) que en HVII (39.5%) pero de la misma forma que para la población Caribe, se encontraron mayor número de cambios en HVII(55%) que en HVI (44.9%). El mismo tipo de distribución se encontró en el estudio de Lizarazo<sup>147</sup> en población Bogotana y de Roa en población Cundiboyasence<sup>148</sup>

La mayor variación en HVII se explica debido a que en esta región se encuentran las tres posiciones en las que la mayoría de muestras difirieron con respecto a la secuencia de referencia de Cambridge, a saber, la 263, la 315.1 y la 73.

**Figura 16. Posiciones que presentaron cambios y No. de cambios observados en la muestra.**



<sup>147</sup> LIZARAZO. R. Variación de la secuencia en las regiones hipervariables I y II del asa de desplazamiento del ADNmt en una muestra de la población de Santa fe de Bogotá y su aplicación en la práctica forense. Trabajo de grado. Magíster en Biología. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias. Bogotá. 1999.

<sup>148</sup> ROA. M. Polimorfismos de la región control del ANDmt humano en una muestra de población mestiza del altiplano Cundiboyacense Colombiano. Trabajo de grado Magíster en Genética Humana. Bogotá D.C. 2005.



En total, en seis posiciones se presentaron inserciones 3 en HVI y 3 en HVII. La inserción más frecuente se observó en la posición 315.1, este cambio lo exhibió el 99.5% de las muestras, seguida por 309.1 con 66.0% y 309.2 con 17.3%. En HVI se presentaron las menores frecuencias de inserción con 16193.1 en un 2.0%, 1043.1 en un 0.5% y 16192.1 en un 0.5%.

En cuanto a deleciones, 14 posiciones presentaron este tipo de cambio, 8 para HVI y 6 para HVII. Las deleciones más frecuentes se encontraron en las posiciones 290 y 291 que se observaron en un 12.7% y 249 en un 11.7%. En HVI las deleciones más frecuentes se presentaron en las posiciones 16325 y 16342 con un porcentaje de 1.5% cada una. Es de resaltar que todas las muestras que presentaron la deleción en 290 lo hicieron también en 291 y que 23 de las 25 muestras que presentaron estos cambios exhibieron también deleción en la posición 249, lo que hace suponer que estos tres cambios se presentan en conjunto.

En general, se presentaron mayor número de transiciones que tranversiones con 1745 transiciones y 91 tranversiones. La transición más frecuente fue A por G que se observó 585 veces, la menos frecuente G por A con 139 veces. En HVI se presentaron 927 transiciones mientras que en HVII se presentaron 818. Respecto a tranversiones la más frecuente fue A por C con 71 veces y la menos frecuente fue G por C y G por T que se presentaron 2 veces cada una. Las tranversiones T por A y T por G no se observaron en este estudio.

En la tabla 17 se detalla el número y tipo de cambios observados.

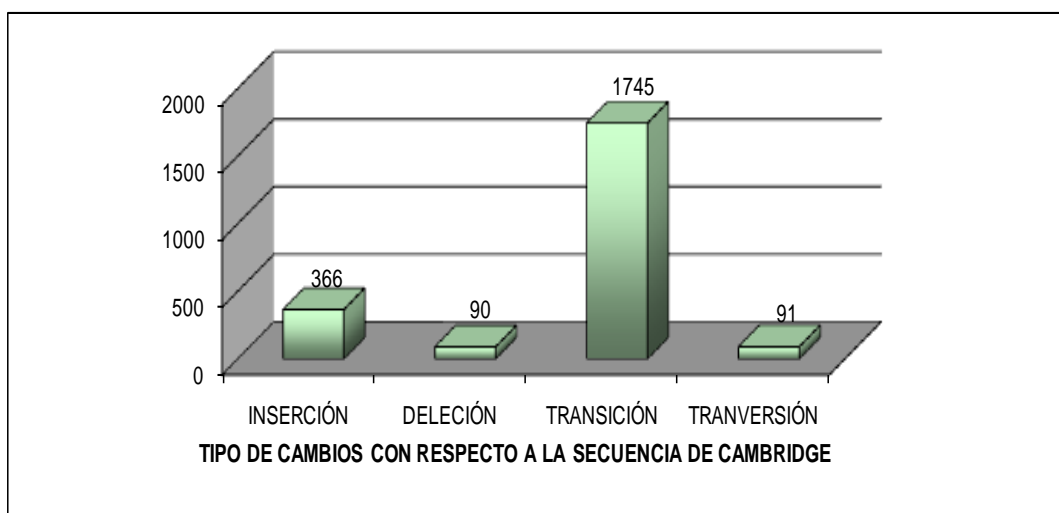
En la figura 17 se observa el número de veces que se presentó cada tipo de cambio con respecto a la secuencia de referencia de Cambridge, las transiciones se presentaron con mayor frecuencia, seguidas de las inserciones, mientras que las tranversiones y las deleciones se presentaron en menor proporción.

**Tabla 17. Cambios con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge observados**

TIPO DE CAMBIO	HVI		HVII		TOTAL		Posiciones que mostraron el cambio con mayor frecuencia
	No. de veces que se presentó	No. de posiciones en que se presentó	No. de veces que se presentó	No. de posiciones en que se presentó	No. de veces que se presentó	No. de posiciones en que se presentó	
Inserción	6	3	360	3	366	6	315.1(99.5%) 309.1(66%)
Deleción	12	8	78	6	90	14	290(12.7%) 291(12.7%)
Transición	927	87	818	40	1745	127	
A por G	56	22	529	9	585	31	263(99.4%), 73(96.4%)

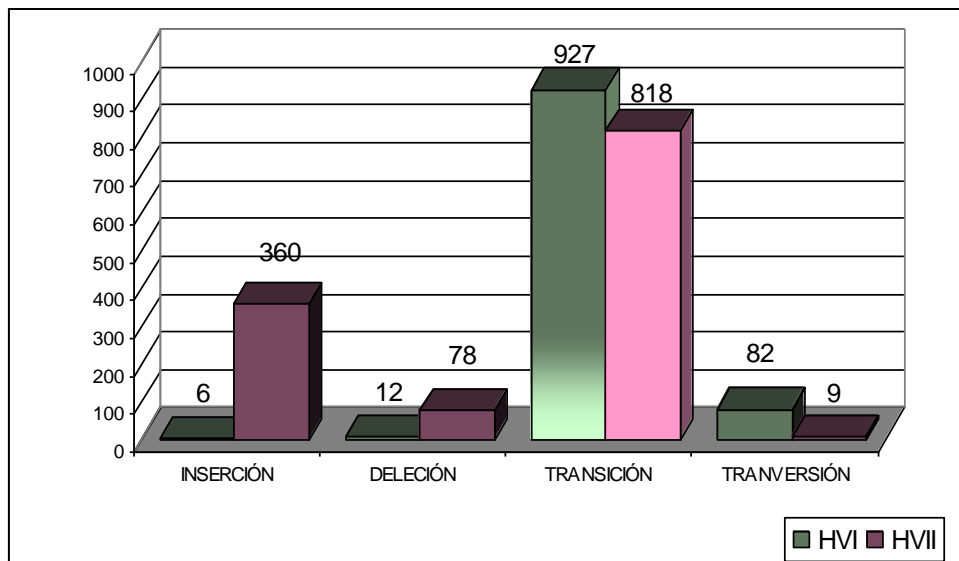
TIPO DE CAMBIO	HVI		HVII		TOTAL		Posiciones que mostraron el cambio con mayor frecuencia
	No. de veces que se presentó	No. de posiciones en que se presentó	No. de veces que se presentó	No. de posiciones en que se presentó	No. de veces que se presentó	No. de posiciones en que se presentó	
G por A	116	9	23	6	39	15	16319(38.07%) 16129(12.18%)
C por T	391	33	82	10	473	43	16223(68.5%) 16111(29.4%)
T por C	364	23	184	15	548	38	146(41.6%) 16189(41.1%)
Tranversión	82	8	9	5	91	13	
G por C	2	1	0	0	2	1	16023(1.0%)
C por G	4	2	0	0	4	2	16021(1.0%), 16188(1.0%)
A por T	3	1	0	0	3	1	16293(1.5%)
T por A	0	0	0	0	0	0	
A por C	67	3	4	2	71	5	16183(28.0%) 16182(6%)
C por A	6	1	3	2	9	3	16114(3%) 186(1.0%)
G por T	0	0	2	1	2	1	185(1%)
T por G	0	0	0	0	0	0	

**Figura 17. Tipos de cambios con respecto de la Secuencia de Referencia de Cambridge observados**



Comparando las dos regiones, en HVI se presentaron mayor número de transiciones y transversiones mientras que en HVII se presentaron mayor número de inserciones y deleciones (ver Figura 18)

**Figura 18. Tipos de cambios con respecto a la secuencia de Referencia de Cambridge observados por región.**



Se conoce que las transiciones en el ADN mitocondrial son más comunes que las transversiones, deleciones e inserciones, lo que concuerda con los resultados obtenidos en este estudio<sup>149, 150</sup> Así mismo, Mora C<sup>151</sup> en población Cundiboyasense, Romero A<sup>152</sup> en población Antioqueña, Lander<sup>153</sup> en población Venezolana y Yap Shee en Singapur<sup>154</sup> reportan mayor cantidad de transiciones vs transversiones. En este mismo sentido se pronuncia Mora C.<sup>155</sup>: “Las transiciones fueron los tipos de mutaciones más frecuente, ...en otros trabajos se ha encontrado esta misma característica (Roa. M, 2005 y Lizarazo. R. 1999). Además se ha observado que con

<sup>149</sup> BUCKLETON J. et al. Nonautosomal Forensic Markers. En: Forensic DNA Evidence Interpretation. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2005. p. 2-25

<sup>150</sup> STRACHAN Tom y ANDREW Read. Op. Cit.

<sup>151</sup> MORA C, Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyasense. Trabajo de grado. Magister en Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes. 2008

<sup>152</sup> ROMERO A. Determinación de los Polimorfismos de Secuencia de las Regiones Hipervariables I Y II del ADN Mitocondrial Humano y Establecimiento de una Base de Datos para Uso Forense. Trabajo de Grado. Biología. Universidad del Tolima. 2007

<sup>153</sup> LANDER N et al. Analysis of variable regions of mtDNA in Venezuelan population Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008. vol 1. p. 346-347

<sup>154</sup> CHENG-YAP. Shee. Mitochondrial DNA hypervariable region 1 polymorphism in Singapore Chinese population En: Legal Medicine. 2005. vol 7. p. 127-133

<sup>155</sup> MORA C. Op Cit.

frecuencia se presentan en las poblaciones amerindias (Shields et al. 1993), encontrándose en las poblaciones amerindias Embera y Wounan (Kolman et al. 1997) y de igual forma en estudios realizados con poblaciones Americanas nativas de Chile, Colombia, Brasil, México y Estados Unidos (Horai et al. 1993).”

Respecto al número de muestras que variaron por cada posición, se pueden observar en la tabla No. 18.

**Tabla 18. Número de muestras que presentaron variación por cada posición**

POSICIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS QUE EXHIBIERON CAMBIO (FRECUENCIA EN %)	POSICIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS QUE EXHIBIERON CAMBIO (FRECUENCIA EN %)	POSICIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS QUE EXHIBIERON CAMBIO (FRECUENCIA EN %)
263	196(99.4)	16187	6(3.0)	16043.1	1(0.5)
315.1	196(99.4)	16213	6(3.0)	16059	1(0.5)
73	190(96.4)	143	6(3.0)	16075	1(0.5)
16223	135(68.5)	185	6(3.0)	16084	1(0.5)
309.1	130(65.9)	325	6(3.0)	16078	1(0.5)
146	82(41.6)	16192	5(2.5)	16094	1(0.5)
16189	81(41.1)	16295	5(2.5)	16104	1(0.5)
16319	75(38.1)	16297	5(2.5)	16145	1(0.5)
16362	70(35.5)	342	5(2.5)	16146	1(0.5)
16111	58(29.4)	16153	4(2.0)	16155	1(0.5)
16290	58(29.4)	16193.1	4(2.0)	16163	1(0.5)
16183	56(28.4)	16286	4(2.0)	16167	1(0.5)
235	56(28.4)	16342	4(2.0)	16168	1(0.5)
153	55(27.9)	89	4(2.0)	16174	1(0.5)
16217	49(24.8)	316	4(2.0)	16175	1(0.5)
16325	40(20.3)	16086	3(1.5)	16176	1(0.5)
152	40(20.3)	16142	3(1.5)	16180	1(0.5)
309.2	34(17.2)	16245	3(1.5)	16185	1(0.5)
16327	31(15.7)	16260	3(1.5)	16186	1(0.5)
150	31(15.7)	16274	3(1.5)	16192.1	1(0.5)
195	31(15.7)	16291	3(1.5)	16203	1(0.5)
16278	29(14.7)	16354	3(1.5)	16207	1(0.5)
16298	28(14.2)	72	3(1.5)	16233	1(0.5)
290	25(12.7)	151	3(1.5)	16235	1(0.5)
291	25(12.7)	183	3(1.5)	16239	1(0.5)
16129	24(12.1)	199	3(1.5)	16241	1(0.5)
249	23(11.6)	207	3(1.5)	16243	1(0.5)
16311	20(10.1)	16021	2(1.0)	16258	1(0.5)
182	16(8.12)	16023	2(1.0)	16259	1(0.5)
16092	15(7.6)	16148	2(1.0)	16292	1(0.5)
16126	15(7.6)	16188	2(1.0)	16301	1(0.5)
16265	13(6.6)	16209	2(1.0)	16305	1(0.5)
189	13(6.6)	16215	2(1.0)	16316	1(0.5)
198	12(6.1)	16219	2(1.0)	16324	1(0.5)
16172	11(5.6)	16230	2(1.0)	16329	1(0.5)
16182	11(5.6)	16256	2(1.0)	16352	1(0.5)

POSICIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS QUE EXHIBIERON CAMBIO (FRECUENCIA EN %)	POSICIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS QUE EXHIBIERON CAMBIO (FRECUENCIA EN %)	POSICIÓN	NÚMERO DE MUESTRAS QUE EXHIBIERON CAMBIO (FRECUENCIA EN %)
16294	11(5.6)	16266	2(1.0)	16360	1(0.5)
16051	9(4.5)	16270	2(1.0)	16368	1(0.5)
16309	9(4.5)	16300	2(1.0)	81	1(0.5)
93	9(4.5)	16355	2(1.0)	115	1(0.5)
16264	8(4.0)	16357	2(1.0)	174	1(0.5)
16356	8(4.0)	95	2(1.0)	227	1(0.5)
194	8(4.0)	114	2(1.0)	250	1(0.5)
200	8(4.0)	186	2(1.0)	267	1(0.5)
247	8(4.0)	206	2(1.0)	279	1(0.5)
16293	7(3.5)	236	2(1.0)	282	1(0.5)
16320	7(3.5)	264	2(1.0)	296	1(0.5)
204	7(3.5)	310	2(1.0)	297	1(0.5)
16093	6(3.0)	16031	1(0.5)	307	1(0.5)
16114	6(3.0)	16042		315	1(0.5)
16124	6(3.0)				

Cambios en las posiciones 263 y 315.1 en HVII se presentaron el mayor número de veces, con 196 muestras (99.4%) seguidos por las posiciones 73 en HVII con 190 muestras (96.4%) y 16223 en HVI con 135(68.5%) muestras. Estos mismos cambios fueron reportados por Mora C<sup>156</sup> en población Cundiboyasence, en frecuencias similares; así mismo, cambios en las posiciones 16189, 16217, 16319, 16362 y 146. Resultados similares reporta Romero A<sup>157</sup> en población Antioqueña y Lander<sup>158</sup> en población Venezolana.

Con respecto a la inserción de una citosina en la posición 309.1, se observa una disminución en la frecuencia reportada en este estudio (65.9%) con respecto a la encontrada por Mora C<sup>159</sup>, quien reporta una frecuencia de 84% para esta inserción y de la misma forma a la descrita por Romero<sup>160</sup>(80%) Es interesante anotar que un porcentaje similar al encontrado en este estudio fue presentando por Lander en población Venezolana (68%)<sup>161</sup>. Esta similitud entre el Caribe colombiano y venezolano se explicaría por la historia del poblamiento de estas regiones donde se observa un aporte importante den origen africano al *pool* genético mitocondrial.

<sup>156</sup> MORA, C Op Cit.

<sup>157</sup> ROMERO A. Op Cit.

<sup>158</sup> LANDER, N.et al. Op Cit.

<sup>159</sup> MORA C Op Cit.

<sup>160</sup> ROMERO A. Op Cit

<sup>161</sup> LANDER N et al. Op Cit.

Se ha reportado que la tasa de mutación no es uniforme en el ADN mitocondrial, algunas posiciones son más susceptibles a acumular cambios, estas se han denominado puntos calientes de mutación o “hots pots” por ejemplo la 16189 o la 152<sup>162</sup>. Así mismo, Bandelt<sup>163</sup> menciona un listado de posiciones en las cuales las transiciones se presentan con mayor frecuencia en HV1, entre estas se encuentran la 16111, 16189, 16223, 16290, 16319 y 16362.

Allard<sup>164</sup> reporta entre los sitios más variables en población del este de Asia las posiciones 16311, 152, 146, 16189, 195, 16362, 16129; y 150.

Las posiciones anteriormente mencionadas se encontraron con mayor frecuencia de mutación en la población residente del Caribe Colombiano (ver tabla No. 19)

Al realizar la búsqueda de los cambios con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge encontrados en este estudio con los reportados en MITOMAP, se encontró que cambios en las posiciones 307, 342 y 16329 no han sido aún reportados<sup>165</sup>. Cambios en las posiciones 81 y 206 aparecen en la base de datos dentro de la categoría “polimorfismos del ADN mitocondrial no publicados” reportadas en pacientes con cáncer oral en la India.<sup>166</sup>

### 3.5 HETEROPLASMÍA

De las 197 muestras, cuatro (4) se consideraron inicialmente con presencia de heteroplasmía de punto en una posición cada una. Siguiendo las recomendaciones de Butler, quien indica que: *“la verificación y autenticidad de la heteroplasmia por una segunda extracción de la muestra es requerida”*<sup>167</sup>, se reprocesaron estas cuatro (4) muestras desde la extracción y se confirmó la presencia de heteroplasmía de punto únicamente en dos (2) muestras. Se observaron también dos(2) muestras con heteroplasmía de longitud en el tracto de poli C en HVII. En la Tabla 19 se muestran las

---

<sup>162</sup> PRIETO A, et al. 2006 GEP-ISFG collaborative exercise on mtDNA: reflections about interpretation, artefacts, and DNA mixtures. En: Forensic Science International: Genetics 2008. Vol 2 126–133

<sup>163</sup> BANDELDT H.J., et al. The fingerprint of phantom mutations in mitochondrial DNA data. En: Am. J. Hum. Genet..2002. vol 71 No. 5. p. 1150–1160.

<sup>164</sup> ALLARD M. Control region sequences for East Asian individuals in the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine 2004. vol 6. p. 11–24

<sup>165</sup> MITOMAP: MtDNA Control Region Sequence Polymorphisms. Editada 2009-10-12,

<sup>166</sup> SARANATH, et al. 2003. MITOMAP mtDNA Sequence Data, <http://www.mitomap.org/cgi-bin/tb115gen.pl#20030529047> y <http://www.mitomap.org/cgi-bin/tb115gen.pl#20030527007>,

<sup>167</sup> BUTLER J. Advanced Topics in Forensic DNA Analysis Training Workshop National Institute of Standards and Technology.2006

posiciones y el tipo de cambio en las muestras que presentaron este fenómeno. En las figuras No. 19 y 20 se observa una de las secuencias que presentaron este evento por cada tipo de heteroplasmía.

**Tabla 19. Tipos de heteroplasmía encontrados.**

ID DE LA MUESTRA	TIPO DE HETEROPLASMIA	POSICIÓN	NUCLEÓTIDOS OBSERVADOS EN LA POSICIÓN HETEROPLÁSMICA
109	De punto	16290	Y (T/C)
126	De punto	227	R (A/G)
96	De longitud	HVII Tracto de Poli C	N.A
112	De longitud	HVII Tracto de Poli C	N.A

N.A: No aplica

Y, R: Notación IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)

**Figura 19. Muestra que presentó heteroplasmía de punto en la posición 16290**

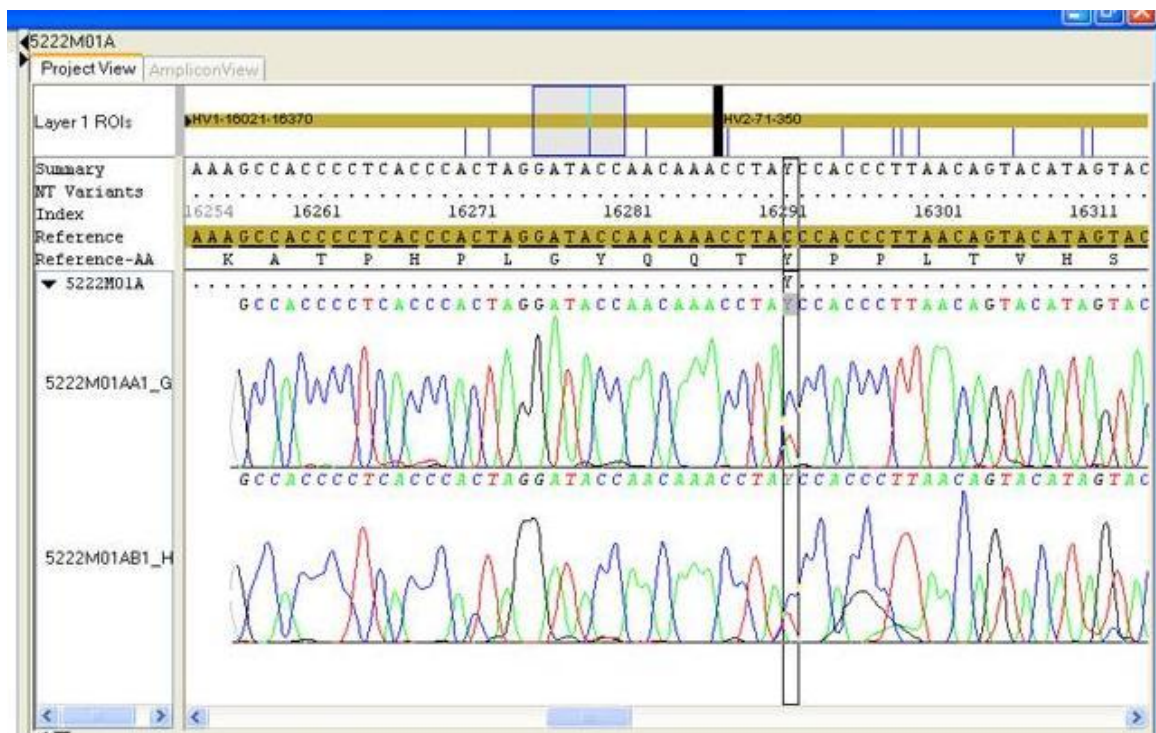
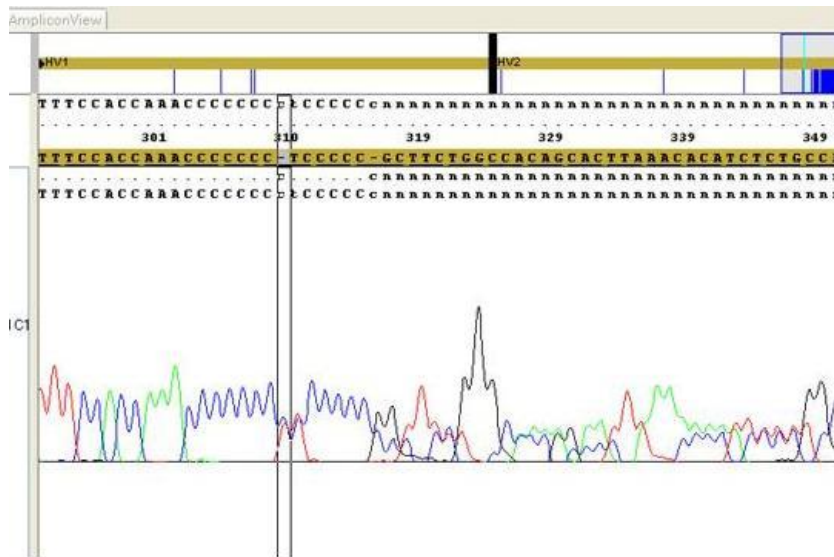


Figura 20. Muestra que presentó heteroplasmía de longitud



Existen diferencias en las tasas reportadas de heteroplasmía aún en el mismo tejido, lo cual podría estar ocasionado por la falta de consenso en el punto de corte para considerar la presencia de dos nucleótidos en una misma posición, esta se encuentra desde el 20%<sup>168</sup> de la línea basal para el pico menor hasta el 50%<sup>169</sup>. Otro factor que podría influir en este tipo de resultados es el tratamiento diferente de las muestras, es posible que no todos los autores acojan la recomendación de reprocesar las muestras en las que se ha detectado una posible heteroplasmía desde la extracción del ADN. Por otra parte, Bini menciona que la frecuencia de heteroplasmía en la región control del ADN mitocondrial de individuos sanos se ha incrementado probablemente debido al aumento de la sensibilidad en los métodos de detección<sup>170</sup>. Parson<sup>171</sup> menciona que la frecuente detección de heteroplasmías es un fenómeno consistente con la rápida tasa de sustitución entre parientes maternos inmediatos.

<sup>168</sup> JAZIN E, et al. Human brain contains high levels heteroplasmy in the noncoding regions of mitochondrial DNA. En: Proc Natl Acad Sci USA. 1996. vol 93. p. 12382-87. Referenciado por: CRESPILO M. ADN mitocondrial Interpretación y Valoración de Resultados. Curso Virtual de Genética Forense. Universidad de Zaragoza. 2008

<sup>169</sup> LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59

<sup>170</sup> BINI C y PAPPALARDO G, mtDNA HVI length heteroplasmic profile in different tissues of maternally related members En: Forensic Science International 2005. vol 152. p 35–38

<sup>171</sup> PARSON W. Population data for 101 Austrian Caucasian mitochondrial DNA D-loop sequences: Application of mtDNA sequence analysis to a forensic case. En: Int J Legal Med 1998.vol 111. p. 124–132



En la tabla 20 se observan las frecuencias de heteroplasmía reportadas en varias poblaciones a nivel mundial. Los resultados obtenidos en este estudio para el Caribe Colombiano concuerdan con los reportados para Austria, el norte de Italia, Japón, Estados Unidos para heteroplasmías de punto y con lo reportado en Eslovaquia y Malasia para las de longitud. Se observó una gran diferencia que entre los porcentajes reportados para Bolivia y los de las demás poblaciones, el autor no reporta el punto de corte respecto al nivel basal para considerar la presencia de heteroplasmía ni el tratamiento de las muestras heteroplásmicas. Con respecto a Eslovaquia, en la que se reporta 0% para heteroplasmía de punto, es explicable puesto que el autor tomó como punto de corte el 50% del nivel basal para la altura del pico menor.

**Tabla 20. Porcentajes de heteroplasmía reportados en diferentes poblaciones**

<b>POBLACIÓN (REFERENCIA)</b>	<b>PORCENTAJE DE HETEROPLASMÍAS</b>	<b>TIPO DE HETEROPLASMÍA</b>
Caribe Colombiano (0)	1%	Punto
Caribe Colombiano (0)	1%	Longitud
Austria – Caucásicos (1)	3%	Punto
Norte de Italia (2)	1.2%	Punto
Japon (3)	2.2%	Punto
Estados Unidos (4)	1.7%	Punto
Bolivia(5)	37.8% HVI 53.15 % HVII	No especifica
Eslovaquia(6)	9.6%HVI	Longitud
Eslovaquia	2.9%HVII	Longitud
Eslovaquia	0%	Punto
Malasia(7)	0.97%	Punto
Singapur(8)	22%	Longitud
Judios de hungaria(9)	7.5%	Punto
China(10)	8.7%	Punto
Georgia(11)	10.4%	Longitud

Referencias: **0.** Presente Estudio **1.** PARSON, W. Population data for 101 Austrian Caucasian mitochondrial DNA d-loop sequences: Application of mtDNA sequence analysis to a forensic case. En: Int J Legal Med . 1998.vol 111 p. 124–132 **2.** BINI, C et al. Polymorphism of mitochondrial DNA D-loop in Rimini and Valmarecchia areas in the North of Italy Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2008 vol.1 p. 262–263 **3.** SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286 **4.** MELTON T y NELSON K Forensic Mitochondrial DNA Analysis: Two Years of Commercial Casework Experience in the United States. En: Croatian Medical Journal.2001. vol 42 No.3. p.298-303. **5.** COSTA A. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series vol 1 2008 p. 259–261. **6.** LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59 **7.** WONG Y. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 205 Singapore Malays. En: Legal Medicine 2007. Vol 9 p. 33–37 **8.** YAP S. C, et al. Mitochondrial DNA hypervariable region 1 polymorphism in Singapore Chinese population. En: Legal Medicine 7. 2005 p. 127–133 **9.** . BRANDSTATTER A. Mitochondrial DNA control region variation in Ashkenazi Jews from Hungary Forensic Science International: Genetics 2 (2008) e4–e6 **10.** IRWIN, J. Mitochondrial DNA control region variation in a population sample from Hong Kong, China En: Forensic Science International: Genetics in press **11.** SANCHEZ A et al. Sequence polymorphisms of the mtDNA control region in a human isolate: the Georgians from Swanetia. En: J Hum Genet 2006. vol 51 p. 429–439

### 3.6 ESTIMADORES GENÉTICO POBLACIONALES

En la tabla 21 se observan los estimadores calculados para la población Caribe en un cuadro comparativo con los reportados para otras poblaciones.

**Tabla 21. Estimadores genético poblacionales.**

Población	N	No. de sitios polimórficos	Diversidad Génica	Promedio del Número de Diferencias Pareadas	Diversidad nucleotídica	Probabilidad de coincidencia
Caribe (1)	197	152	0,9923	12,8±5,8	0,08±0,04	1.3%
Bolivia (2)	111	125	0,9988	S.D	0,02±0,008	S.D
Japón (3)	1204	S.D	0,9969	9,7±4,1	S.D	S.D
Caracas (4)	100	134	0,9842	13,4±6,07	0,09±0,05	2,56%
Korea (5)	185	S.D	0,9988	10,11±4,66	S.D	0,66%
Eslovaquia (6)	374	163	0,997	8,03	S.D	0,60%
España (7)	312	S.D	0,997	S.D	S.D	S.D
Finlandia (8)	200	118	0,992	8,0±3,73	S.D	S.D
Malasia (9)	205	152	0,9961	10,4±4,8	S.D	0,87%
Boyacá - Cundinamarca (10)	100	91	0,9899	S.D	S.D	S.D
Antioquia (11)	100	143	0,9921	S.D	S.D	S.D
Alemania (12)	213	150	0,9968	S.D	S.D	0,79%
Servia (13)	104	116	0,997	S.D	S.D	1.18%

S. D: Sin Dato **Referencias:** 1. Presente Estudio. 2. COSTA A. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1 . 2008 p. 259–261 3. SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286 4. LANDER N. et al. Haplotype. diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I–III in the city of Caracas (Venezuela). En: Forensic Science International: Genetics 2008. vol 2. e61–e64 5. JUN JIN, H. et al. Forensic genetic analysis of mitochondrial DNA hypervariable region I/II sequences: An expanded Korean population database. En: Forensic Science International 2006. vol 158 p.125–130 6. LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59 7. ALVAREZ J. C. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine. 2007. vol 9. p. 293–304 8. HEDMAN, M. et al. Finnish mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II population data En: Forensic Science International 2007 vol 172 p.171–178 9. WONG Y. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 205 Singapore Malays. En: Legal Medicine 2007. Vol 9 p. 33–37 10. MORA C, Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyasense. Trabajo de grado. Magister en Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes. 2008 11. ROMERO A et al. Los grupos étnicos en los censos de población. Colombia una Nación Multicultural, Su Diversidad Étnica. Bogotá: Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas. Dirección de censos y Demografía, 2007. 12. TETZLAFF S. Mitochondrial DNA population data of HVS-I and HVS-II sequences from a northeast German simple. En: Forensic Science International 2007. Vol 172. p 218–224 13. DRAGANA Z. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA control region in the population of Vojvodina Province, Servia. Legal Medicine vol 12. 2010 p. 104-107

El valor de diversidad génica, que indica la probabilidad de que dos secuencias escogidas al azar exhiban haplotipos diferentes es similar al encontrado en las otras poblaciones reportadas. El valor obtenido para la

población Caribe Colombiana en el presente estudio (0.9923) indica que es apto emplear la secuenciación de las regiones HVI y HVII del ADN mitocondrial como metodología de abordaje para casos forenses en los cuales no sea posible tipificar STRs nucleares.

Con respecto al número de sitios polimórficos, esto es, el número de sitios de las regiones HVI y HVII que exhibieron variación con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge, se observa que en los estudios reportados estos varían entre 118 posiciones para la población de Finlandia<sup>172</sup> y 163 en Eslovaquia<sup>173</sup>, el número de posiciones variables para la población Caribe se encuentra dentro de este rango, con 152 posiciones, lo cual, nuevamente confirma la utilidad del ADN mitocondrial en esta región del país. Comparado con los resultados obtenidos para población Antioqueña<sup>174</sup> (143) y Cundiboyasence<sup>175</sup> (91), la región Caribe exhibe el mayor número de sitios polimórficos. El valor más alto con respecto a estas dos poblaciones colombianas se puede deber a la presencia de linajes africanos en la región Caribe (ver numeral 3.7), que pudieron haber acumulado más cambios en el tiempo que los linajes amerindios. También es probable que incida sobre el número de sitios polimórficos el tamaño muestral, que para el presente estudio dobla el número de muestras secuenciadas para las regiones Cundiboyasence y Antioqueña, lo cual aumenta la probabilidad de encontrar cambios con respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge.

En cuanto al número de diferencias pareadas, es decir, el número de diferencias promedio entre todos los pares de haplotipos encontrados en la muestra, se reportan valores que van desde  $8,0 \pm 3,73$  en Finlandia<sup>176</sup> hasta  $13,4 \pm 6,07$  en Caracas – Venezuela<sup>177</sup>, siendo este último el único valor que es mayor al encontrado para la población del Caribe Colombiano en este estudio ( $12,8 \pm 5,8$ ). Este resultado es concordante con los reportados para otras poblaciones y desde el punto de vista forense es interesante que se haya obtenido un valor ligeramente más alto que para otros estudios como Japón<sup>178</sup> o Malasia<sup>179</sup>, pues entre mayor sea el número promedio de

---

<sup>172</sup> HEDMAN, M. et al. Finnish mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II population data En: Forensic Science International 2007 vol 172 p.171–178

<sup>173</sup> LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59

<sup>174</sup> ROMERO A et al. Los grupos étnicos en los censos de población. Colombia una Nación Multicultural, Su Diversidad Étnica. Bogotá: Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas. Dirección de censos y Demografía, 2007

<sup>175</sup> MORA C, Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyasence. Trabajo de grado. Magister en Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes. 2008

<sup>176</sup> HEDMAN, M. et al. Op. Cit

<sup>177</sup> LANDER N. et al. Haplotype diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I–III in the city of Caracas (Venezuela). En: Forensic Science International: Genetics 2008. vol 2. e61–e64

<sup>178</sup> SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286

diferencias encontradas entre dos secuencias, mayor será el poder de discriminación entre linajes en la base de datos y por lo tanto su utilidad en la casuística, bien sea con fines de discriminación del origen biológico entre muestras o con fines de filiación por linaje materno. Ahora bien, el hecho de que el valor en el Caribe Colombiano sea más alto que el reportado para poblaciones de origen Europeo o Asiático puede estar relacionado con el número de linajes originales en la población del Caribe, que estuvo influenciada por la inmigración de poblaciones Africanas en el momento de la conquista del país.

La Diversidad nucleotídica encontrada es de  $0,08 \pm 0,04$ , este valor indica el número de diferencias nucleotídicas entre dos secuencias escogidas al azar. Este índice es similar al encontrado en la población de Caracas<sup>180</sup> y difiere con el reportado para Bolivia<sup>181</sup>, lo que podría estar reflejando la similitud de la historia del poblamiento de la región Caribe Colombiana y de la población Venezolana, que estuvieron expuestas al ingreso de genomas mitocondriales africanos con mayor diversidad acumulada en el tiempo que los genomas amerindios.

La probabilidad de coincidencia, esto es, la probabilidad de escoger dos secuencias al azar y que sean iguales, se estimó como 1.3%, este valor es ligeramente más alto que el encontrado para poblaciones asiáticas y europeas y más bajo que el reportado para Caracas – Venezuela<sup>182</sup>, el cual es casi el doble del encontrado para la región del Caribe colombiano.

Todos los valores de diversidad obtenidos indican que la Región Caribe Colombiana es una población diversa en su composición mitocondrial y por lo tanto, es válido el uso de la secuenciación de las regiones HVI y HVII en casos de identificación humana o criminalística en esta región del país. Los valores reportados en este estudio son coherentes con los obtenidos en otros que han tenido como objetivo la construcción de bases de datos de haplotipos de ADN mitocondrial para el uso forense. (Imaizumi K, et al<sup>183</sup>., Koyama H et al,<sup>184</sup> Maruyama S et al<sup>185</sup>, Melton T<sup>186</sup> y autores de los estudios referenciados en la tabla 21)

---

<sup>179</sup> WONG Y. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 205 Singapore Malays. En: Legal Medicine 2007. Vol 9 p. 33–37

<sup>180</sup> LANDER N et al. Op. Cit.

<sup>181</sup> COSTA A. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1 . 2008 p. 259–261

<sup>182</sup> LANDER N et al. Op. Cit

<sup>183</sup> IMAIZUMI, K, et al. A new database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences from 162 Japanese individuals. En: Int J Legal Med 2002 vol. 116. p. 68–73. Citado por: KAZUO, U. Recent progress in mitochondrial DNA analysis En: Legal Medicine 2005. vol 7. p. 259–262

<sup>184</sup> KOYAMA, H, et al. Mitochondrial sequence haplotype in the Japanese population. En: Forensic Sci Int. 2002. vol 125. p.93–6. Citado por: KAZUO, U. Recent progress in mitochondrial DNA analysis En: Legal Medicine 2005. vol 7. p. 259–262

La Base de Datos construida en este estudio puede ser empleada con el fin de reportar cálculos probabilísticos en los informes periciales con resultados de no exclusión en los cuales se emplee la metodología del ADN mitocondrial, de tal forma que se puedan seguir las recomendaciones de diferentes autores y grupos de trabajo en el campo de la genética forense, quienes expresan la necesidad de informar un resultado estadístico poblacional con el fin de que se pueda asignar un valor probatorio al resultado del análisis (NEAFS<sup>187</sup>, Budowle B<sup>188</sup>, NIST<sup>189</sup>, Goodwin<sup>190</sup>, Bucklenton et al.<sup>191</sup>, Budowle B<sup>192</sup>, SWGDAM<sup>193</sup>).

En general, los resultados obtenidos son concordantes con los reportados en otros estudios con diferentes poblaciones y además permiten inferir que la región Caribe Colombiana exhibe un alto grado de diversidad mitocondrial que puede estar relacionado con la composición étnica de la región originalmente compuesta por grupos amerindios y posterior al proceso de conquista por grupos de europeos y africanos traídos dentro del proceso de la trata de esclavos como fuerza de trabajo.

---

<sup>185</sup> MARUYAMA S. et al. Sequence polymorphisms of the mitochondrial DNA control region and phylogenetic analysis of mtDNA lineages in the Japanese populations. En: Int J Legal Med 2003. Vol 117. p. 218–25. Citado por: KAZUO, U. Recent progress in mitochondrial DNA analysis En: Legal Medicine 2005. vol 7. p. 259–262

<sup>186</sup> MELTON T y NELSON K Forensic Mitochondrial DNA Analysis: Two Years of Commercial Casework Experience in the United States. En: Croatian Medical Journal.2001. vol 42 No.3. p.298-303.

<sup>187</sup> NORTHEASTERN ASSOCIATION OF FORENSIC SCIENTISTS (NEAFS). 2006 Workshop. Butler J, Coble M. Y-Chromosome and Mitochondrial DNA analysis.

<sup>188</sup> BUDOWLE, Bruce. Interpretation Guidelines for Mitochondrial DNA Sequencing. Presentado en el X Simposio Interhacional de Identificación Humana ,10th, Madison, Wis., 1999 . Disponible en <http://www.pomega.com/ussymp10proc/default.htm>.

<sup>189</sup> NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST), BUTLER M, Advanced Topics in Forensic DNA Analysis. mtDNA. New Jersey State Police Training Workshop Hamilton, NJ , 2006

<sup>190</sup> GOODWIN W et al. Op. Cit.

<sup>191</sup> BUCKLENTON J et al. Nonautosomal Forensic Markers En: Forensic DNA Evidence Interpretation. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2005. p. 2-25.

<sup>192</sup> BUDOWLE B et al. Forensics and Mitochondrial DNA: Applications, Debates, and Foundations. En: Annual Review of Genomics and Human Genetics. 2003. vol 4 p. 119-141.

<sup>193</sup> SCIENTIFIC WORKING GROUP ON DNA ANALYSIS METHODS (SWGDAM). Guidelines for Mitochondrial DNA (mtDNA) Nucleotide Sequence Interpretation. En: Forensic Science Communications 2003. vol 5. No. 2

### 3.6.1 Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) entre departamentos.

En la tabla No. 22 se indica el resultado del AMOVA considerando los siete departamentos de la región dentro de un grupo. Se puede observar que el total de la variación está distribuída dentro de los departamentos (100.9%), la variación entre departamentos arrojó un valor de -0.90.

**Tabla 22. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)**

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	COMPONENTES DE VARIANZA	PORCENTAJE DE VARIACIÓN
Entre los departamentos	6	29.287	-0.05760 Va	-0.90
Dentro de los departamentos	190	1225.124	6.44802 Vb	100.90
Total	196	1254.411	6.39042	

El valor de Fst fue estimado en -0.00901, no estadísticamente significativo (P= 1.00000) teniendo como nivel de significancia 0.05, no se observa subestructura en la región, por lo cual es válido emplear una base de datos de las regiones HVI y HVII del ADN mitocondrial para toda la región Caribe. Atendiendo así recomendaciones de asociaciones como la NEAFS (Northeastern Association of Forensic Scientists)<sup>194</sup> que indican la necesidad de realizar análisis de subestructura regional cuando se emplee el ADN mitocondrial con fines forenses.

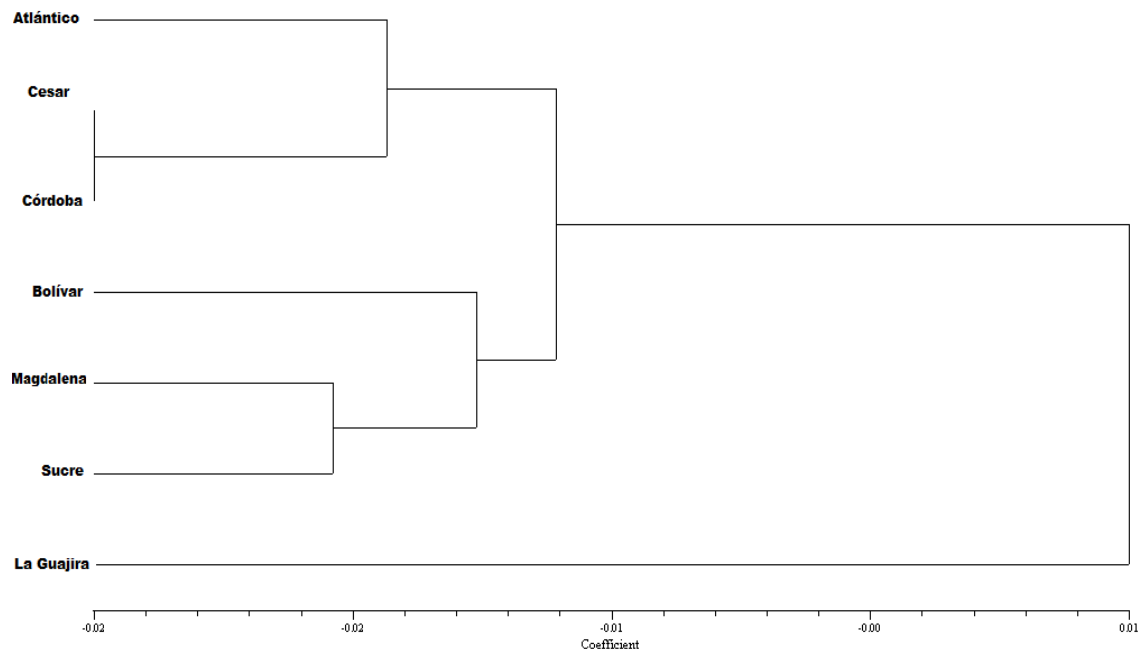
**3.6.2 Análisis Gráfico de Distancias Genéticas.** En la tabla 23 se presenta la matriz de similaridad construida con base en las diferencias pareadas entre departamentos. En la figura 21 se muestra el dendograma resultante.

**Tabla 23. Diferencias Pareadas entre Departamentos.**

	ATLANTICO	BOLIVAR	CESAR	CORDOBA	GUAJIRA	MAGDALENA	SUCRE
ATLANTICO	0.00000	-----	-----	-----	-----	-----	-----
BOLIVAR	-0.00597	0.00000	-----	-----	-----	-----	-----
CESAR	-0.01824	-0.01124	0.00000	-----	-----	-----	-----
CORDOBA	-0.01028	-0.01010	-0.02205	0.00000	-----	-----	-----
GUAJIRA	0.00804	0.02293	-0.01042	0.00621	0.00000	-----	-----
MAGDALENA	-0.01350	-0.01281	-0.01524	-0.01088	0.00331	0.00000	-----
SUCRE	-0.01002	-0.01098	-0.01010	-0.00077	0.00279	-0.01570	0.00000

<sup>194</sup> NORTHEASTERN ASSOCIATION OF FORENSIC SCIENTISTS (NEAFS). 2006 Workshop. Butler J, Coble M. Y-Chromosome and Mitochondrial DNA analysis.

**Figura 21. Dendograma por Departamentos.**



Se observa que se forman tres clusters principales, uno que agrupa a los departamentos de Atlántico, Cesar y Córdoba, en el que se observa que no hay diferencia entre Cesar y Córdoba, al cual se une posteriormente otro cluster formado por Bolívar, Magdalena y Sucre. Como el más distante se observa el departamento de La Guajira. El dendograma muestra que la composición genética del ADN mitocondrial en la región es bastante homogénea, lo que concuerda con los resultados obtenidos en el Análisis Molecular de la Varianza.

El hecho de que La Guajira se muestre como el departamento más distante puede tener al menos tres explicaciones, la fuerte composición indígena de la región, en el departamento actualmente están presentes las etnias Arawaco, Kogui, Wayuu y Wiwa, según el DANE<sup>195</sup>, “los departamentos de La Guajira, Cauca y Nariño concentran aproximadamente la mitad de indígenas del país”, en el mismo sentido se pronuncian Mendoza R et al<sup>196</sup> quienes indican que La Guajira se encuentra como uno de los departamentos con mayor población indígena. El tipo de organización social y familiar de los Wayuu es el matriarcado, de tal forma que los linajes mitocondriales se pueden haber conservado a través del tiempo sin exhibir mestizaje (*La forma de organización familiar y social en la cultura Wayuu, es, entonces, el matriarcado o la filiación por línea materna. Este sistema surgió por ausencia*

<sup>195</sup> DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (DANE). Colombia Una Nación Multicultural: Su diversidad Etnica. Bogotá DANE:2007

<sup>196</sup> MENDOZA R et al. Op. Cit.

*temporal del hombre, cuando se veía obligado a salir del hogar para realizar oficios como caza y pesca(Gonzalez G, Riaño, Vaisus, 2002). De manera concreta las familias nucleares se agrupan en familias extensas, o sea, en conjuntos de unidades domésticas emparentadas por línea materna, dentro de los cuales el tío materno más viejo y la abuela desempeñan el papel preponderante. Estos conjuntos de familias nucleares se agrupan a su vez en conjuntos más amplios, que incluyen a las unidades domésticas formadas por todos los tíos maternos y la abuela materna. (Friedeman, 1982))<sup>197</sup>. Otro factor que podría estar incidiendo en la topología del árbol es el tamaño muestral para el departamento, pues de acuerdo con el porcentaje del total de la región, el número de individuos muestreados fue de 10.*

### **3.7 CLASIFICACIÓN DE LAS SECUENCIAS EN HAPLOGRUPOS**

De acuerdo con los cambios respecto a la Secuencia de Referencia de Cambridge y a las clasificaciones propuestas por Torroni<sup>198</sup>, Brown<sup>199</sup>, Alvarez<sup>200</sup> y Salas<sup>201</sup> ya descritas en la tabla 13, las 197 secuencias se clasificaron en haplogrupos, obteniendo los resultados indicados en la tabla 24. Se detectaron los cinco haplogrupos fundadores Nativo-Americanos A:28%, B:25%, C:13%, D:6%, X:4%; una importante proporción de haplogrupos Africanos (8%) y en menor proporción Europeos (2%).(Ver figura 22). Ninguna muestra fue clasificada dentro de haplogrupos Asiáticos, teniendo en cuenta las posiciones características indicadas por Allard M.<sup>202</sup>. Algunas secuencias, de acuerdo con los cambios presentados clasificaron en dos diferentes haplogrupos, teniendo en cuenta que el número de mutaciones que se acumulan va aumentando en el tiempo, estas secuencias fueron clasificadas según el haplogrupo que exhibiera el mayor número de cambios. Las secuencias que no presentaron las posiciones características según los autores descritos anteriormente se agruparon en la categoría “sin clasificar”. En la tabla No. 24 se presenta la clasificación de las secuencias.

---

<sup>197</sup> AMARÍS M.y CEPEDA J. Revisión Bibliográfica analítica sobre los elementos culturales de la familia de los pueblos amerindios, Kogui y Wayuu. En: Psicología desde el Caribe. 2005.Diciembre No. 016.p.128-147

<sup>198</sup> TORRONI A. et al. Asian Affinities and Continental Radiation of the Four Founding Native American mtDNAs. En: Am. J. Hum. Genet. 1993. vol 53. p. 563-590

<sup>199</sup> BROWN D et al. mtDNA Haplogroup X: An Ancient Link between Europe / Western Asia and North America? En: Am. J. Hum. Genet. 1998 vol 63 p.1852–1861

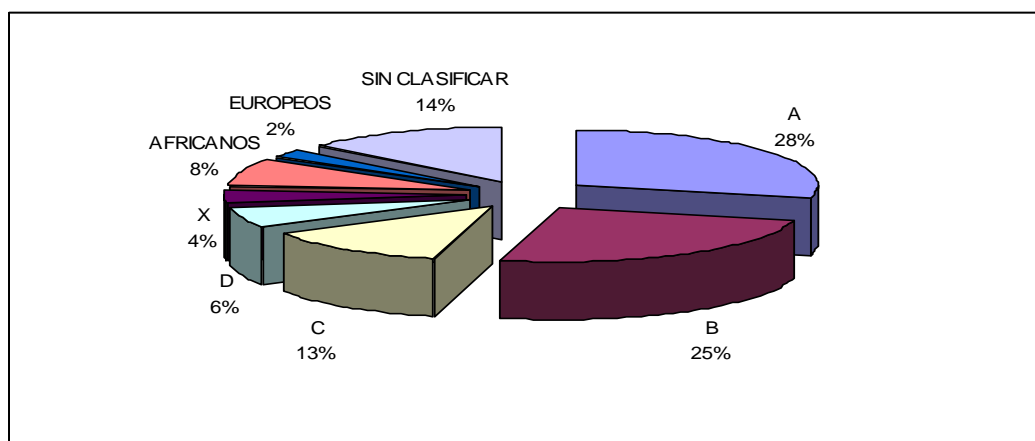
<sup>200</sup> ALVAREZ J. C. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine. 2007. vol 9. p. 293–304

<sup>201</sup> SALAS A et al. The African Diaspora: Mitochondrial DNA and the Atlantic Slave Trade. En: Am. J. Hum. Genet. 2004. vol 74. p.454–465

<sup>202</sup> ALLARD M et al. Control region sequences for East Asian individuals in the Scientific Working group on DNA Analysis Methods forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine 2004. vol 6. p 11–24



**Figura 22. Clasificación inicial de haplogrupos**



**Tabla 24. Clasificación inicial de las secuencias en haplogrupos**

<b>ORIGEN CONTINENTAL</b>	<b>HAPLOGRUPO</b>	<b>NO. DE MUESTRAS CLASIFICADAS</b>	<b>PORCENTAJE DEL TOTAL DE MUESTRAS</b>
Amerindio	A	57	28,9%
Amerindio	B	49	24,9%
Amerindio	C	25	12,7%
Amerindio	D	12	6,1%
Amerindio	X	7	3,6%
Africano	L1	1	0,5%
Africano	L0a1	1	0,5%
Africano	L0a2	1	0,5%
Africano	L1b	2	1,0%
Africano	L3b	1	0,5%
Africano	L3e1a	1	0,5%
Africano	L3e2b	2	1,0%
Africano	L3e4	6	3,0%
Africano	L3f	1	0,5%
Europeo	T	1	0,5%
Europeo	V	3	1,5%
Sin Clasificar	Sin Clasificar	27	13,7%

Las secuencias que fueron asignadas a la categoría “Sin clasificar” y que fueron posteriormente ingresadas en la base de datos mtDNAManager, fueron clasificadas en su mayoría, como pertenecientes a haplogrupos africanos. (ver tabla 25)

**Tabla 25. Asignación de haplogrupos empleando el software mtDNAManager de las secuencias originalmente categorizadas como “sin clasificar”.**

<b>ORIGEN CONTINENTAL</b>	<b>HAPLOGRUPO</b>	<b>NO. DE MUESTRAS CLASIFICADAS EMPLEANDO mtDNAManager</b>
Este de Asia <sup>4</sup>	D4b1	1
Este de Asia <sup>4</sup>	D4c	1
Europeo <sup>3</sup>	H	2
Africano <sup>1</sup>	L2a	1
Africano <sup>1</sup>	L2a1	1
Africano <sup>1</sup>	L2a1a	2
Africano <sup>1</sup>	L2b	1
Africano <sup>1</sup>	L2d	1
Africano <sup>2</sup>	L3d	2
Africano <sup>2</sup>	L3d1a	1
Africano <sup>2</sup>	L3d1d	1
Africano <sup>2</sup>	L3d3	1
Africano <sup>2</sup>	L3e1	3
Africano <sup>2</sup>	L3e1d	1
Africano <sup>2</sup>	L3e2b	2
Africano <sup>4</sup>	U6a	2
Sin Clasificar	Sin Clasificar	4

1. SALAS, Antonio. The Making of the African mtDNA Landscape. *En: Am. J. Hum. Genet.* 2002. vol 71 p. 1082–1111. 2. SALAS A et al. The African Diaspora: Mitochondrial DNA and the Atlantic Slave Trade. *En: Am. J. Hum. Genet.* 2004. vol 74. p.454–465. 3. ALVAREZ J. C. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. *En: Legal Medicine.* 2007. vol 9. p. 293–304 4. mtDNA Haplogroup Specific Control Region Mutation Motifs disponible en <http://mtmanager.yonsei.ac.kr> consultada 2009-08-30

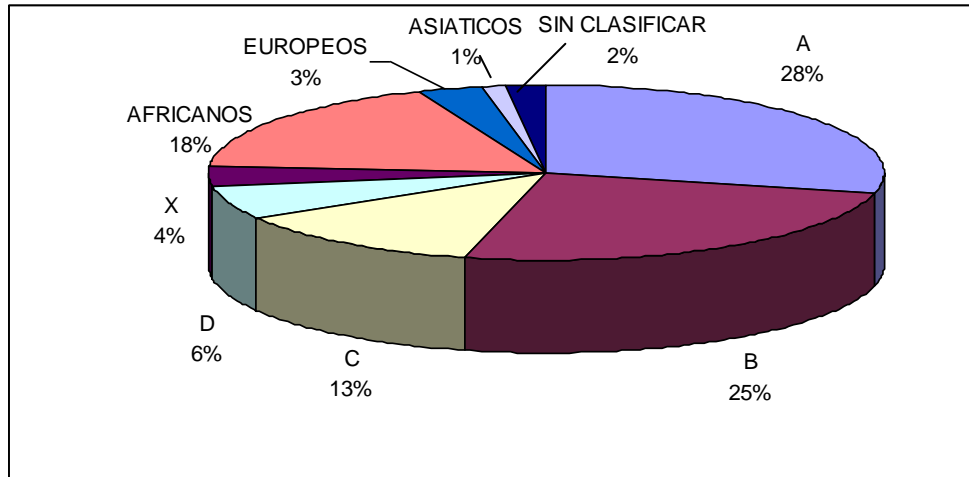
En la tabla 26 se presentan los haplogrupos encontrados en la región Caribe incluyendo la clasificación de las secuencias luego de empleada la herramienta mtDNAManager para las secuencias que originalmente se asignaron a la categoría “Sin Clasificar”.

Se observa que el porcentaje de haplogrupos Africanos aumentó en un 10%, 19 de las 27 muestras que originalmente no se asignaron a ningún haplogrupo, fueron clasificadas dentro de haplogrupos Africanos. Empleando este software, dos muestras fueron clasificadas como de origen Asiático y cuatro muestras no fueron clasificadas dentro de ningún haplogrupo. (ver figura No. 23)

**Tabla 26. Haplogrupos encontrados en la Región Caribe incluyendo las secuencias clasificadas con el software mtDNAManager**

<b>ORIGEN CONTINENTAL</b>	<b>HAPLOGRUPO</b>	<b>NO. DE MUESTRAS CLASIFICADAS</b>	<b>PORCENTAJE DEL TOTAL DE MUESTRAS</b>
Amerindio	A	57	28,9%
Amerindio	B	49	24,9%
Amerindio	C	25	12,7%
Amerindio	D	12	6,1%
Amerindio	X	7	3,6%
Africano	L3e4	6	3,0%
Europeo	V	3	1,5%
Africano	L3e1	3	1,5%
Africano	L1b	2	1,0%
Africano	L3e2b	2	1,0%
Africano	L2a1a	2	1,0%
Africano	L3d	2	1,0%
Africano	L3e2b	2	1,0%
Africano	U6a	2	1,0%
Europeo	H	2	1,0%
Africano	L0a1	1	0,5%
Africano	L0a2	1	0,5%
Africano	L3b	1	0,5%
Africano	L3e1a	1	0,5%
Africano	L1	1	0,5%
Africano	L3f	1	0,5%
Africano	L2a	1	0,5%
Africano	L2a1	1	0,5%
Africano	L2b	1	0,5%
Africano	L2d	1	0,5%
Africano	L3d1a	1	0,5%
Africano	L3d1d	1	0,5%
Africano	L3d3	1	0,5%
Africano	L3e1d	1	0,5%
Este de Asia	D4b1	1	0,5%
Este de Asia	D4c	1	0,5%
Europeo	T	1	0,5%
Sin Clasificar	Sin Clasificar	4	2,0%

**Figura 23. Distribución de haplogrupos en toda la región incluyendo las secuencias clasificadas con el software mtDNAManager**



De acuerdo con los resultados presentados anteriormente, en la Región Caribe Colombiana se detectaron mayoritariamente los haplogrupos Amerindios A (28%) y B(25%) seguidos por los Africanos (18%), los Amerindios C(13%), D(6%), X(4%) y en menor proporción fueron detectados haplogrupos Europeos (3%) y Asiáticos (1%) (ver figura 23). La mayoría de la composición dentro de la población está dada por haplogrupos Amerindios (78%), seguida por los Africanos.

Los resultados obtenidos concuerdan con la historia del poblamiento Americano, autores como Torroni<sup>203</sup>, Bonatto y Salzano<sup>204</sup>, Achilli<sup>205</sup>, y Schurr<sup>206</sup> indican que la población nativo americana se clasifica dentro de los haplogrupos encontrados en este estudio A, B, C, D, X. Si bien el haplogrupo X en poblaciones nativo americanas se ha encontrado restringido a Norteamérica, según lo descrito por Brown et al<sup>207</sup>, también se ha reportado presencia de este en poblaciones Europeas<sup>208, 209</sup>, es probable que la presencia de este haplogrupo en la población residente del Caribe Colombiano sea debida al flujo génico Europeo en la época de la Conquista o posterior a este periodo.

<sup>203</sup> TORRONI et al. Asian Affinities and Continental Radiation of the Four Founding Native American mtDNAs Op. cit

<sup>204</sup> SANDRO L. BONATTO y SALZANO Francisco. Op. Cit.

<sup>205</sup> ACHILLI Alessandro et al. Op. Cit

<sup>206</sup> SCHURR, T.G. et al. Op. Cit

<sup>207</sup> BROWN M et al. Op. Cit

<sup>208</sup> Ibid.

<sup>209</sup> ALVAREZ J.C et. al. Op. Cit

Por otra parte, el alto porcentaje africano y la representación Europea, se explica por la historia reciente de la conquista española, momento en que la población amerindia se redujo y se mezcló con grupos Europeos y Africanos estos últimos traídos como esclavos provenientes principalmente del Oeste, el Sureste de Africa y Angola<sup>210,211,212</sup>

En la tabla 27 se indican los porcentajes de la composición de haplogrupos reportados por otros autores en diferentes poblaciones americanas.

**Tabla 27. Composición de Haplogrupos en poblaciones Americanas.**

POBLACIÓN	HAPLOGRUPOS						
	A	B	C	D	X	AFRICANOS	EUROASIATICOS
Caribe(1)	28%	25%	13%	6%	4%	18%	4%
Cundiboyasence (2)	32%	32%	14%	12%	S.D	S.D	S.D
Antioquia (3)	25%	42%	8%	6%	S.D	S.D	S.D
Antioquia (4)	45%	37%	6%	1%	S.D	S.D	S.D
Wayuu (5)	25%	15%	60%	0	S.D	S.D	S.D
Wayuu (6)	25%	35%	38%	0	S.D	S.D	S.D
Kogui (5)	36%	0	63%	0	S.D	S.D	S.D
Chimila (5)	88%	0	2.8%	5.7%	S.D	S.D	S.D
Zenú (5)	14.7%	32.4%	50%	2.9%	S.D	S.D	S.D
Zenú (6)	19%	41%	30%	5%	S.D	S.D	S.D
Cauca (7)	0%	10%	0%	0%	S.D	S.D	S.D
Nuquí (7)	15%	6.1%	0%	0%	S.D	39.4%	S.D
Quibdó (7)	7.1%	3.2%	3.7%	0%	S.D	21.4%	S.D
Providencia(7)	10%	0%	0%	0%	S.D	52.5%	S.D
San Basilio (7)	5.3%	5.3%	0%	2.6%	S.D	44.7%	S.D
Mestizos (Bogotá) (7)	37.4%	26.4%	7.7%	6.6%	S.D	1.1%	S.D
Venezuela (8)	34%	4%	20%	8%	S.D	24%	9%
Costa Rica(9)	52.5%	27.5%	4.1%	S.D	S.D	S.D	S.D
Mexico(9)	40%	25.5%	1.8%	S.D	S.D	S.D	S.D
Bolivia (10)	4.5%	47.75%	14.41%	6.31%	S.D	S.D	S.D

S. D: Sin Dato **Referencias** 1. Presente Estudio. 2. MORA C. Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyasence. Trabajo de grado. Magister en Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes. 2008 3. ROMERO A. Determinación de los Polimorfismos de Secuencia de las Regiones Hipervariables I Y II del ADN Mitocondrial Humano y Establecimiento de una Base de Datos para Uso Forense. Trabajo de Grado. Biología. Universidad del Tolima.2007. 4. CARVAJAL Luis G. Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia En: Am. J. Hum. Genet. 2000. Vol 67 p.1287–1295. 5. KEYEUX, G et al. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA Studies in Colombian Amerindian Populations. En: Human Biology. 2002. Vol 74 No. 2. p. 211. 6. MESA, Natalia R. et al. Autosomal, mtDNA, and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre - and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America En: Am. J. Hum. Genet. 2000 vol 67. p :1277–1286 7. RODAS PEREZ, M.C. Análisis Genético Molecular de los Haplogrupos Fundadores del DNA mitocondrial en América en Poblaciones Colombianas. Trabajo de Grado.

<sup>210</sup> SALAS Antonio. The Making of the African mtDNA Landscape . Op. cit

<sup>211</sup> CURTIN, P.D. (1969) The Atlantic slave trade: a census. Madison: University of Wisconsin Press, 1969. Citado por: Luis G. Carvajal-Carmona, Op. Cit

<sup>212</sup> Acosta M.. et al. Op. Cit

Magister en Biología con énfasis en Genética. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana . Facultad de Ciencias. 1997 **8**. LANDER N et al. Analysis of variable regions of mtDNA in Venezuelan population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008. vol 1. p. 346–347 **9**. CAMPOS-SÁNCHEZ R et al. Genetic Structure Analysis of Three Hispanic Populations from Costa Rica, Mexico, and the Southwestern United States Using Y-Chromosome STR Markers and mtDNA Sequences. Human Biology 2006. Vol 78(5) p. 551-563 **10**. COSTA A. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series vol 1 2008 p. 259–261

En las poblaciones americanas se observa la mayor presencia de haplogrupos A y B, y en menor proporción C y D, con excepción de las poblaciones afroamericanas colombianas en las que se reporta una mayor presencia de haplogrupos africanos vs amerindios.

La distribución de haplogrupos amerindios en la población Caribe Colombiana de este estudio es similar a la encontrada en población Cundiboyasense, si bien el haplogrupo D en esta última está presente en el doble de proporción que en el Caribe.

Las distribuciones de haplogrupos amerindios en las etnias que habitan la región Wayuu, Kogui, Chimila y Zenú, son diferentes entre ellas, sin embargo el haplogrupo C en Wayuu, Kogui y Zenú está presente en una proporción mucho mayor que la encontrada en residentes de la región Caribe.

En cuanto a los haplogrupos africanos, la distribución encontrada es similar a la reportada para población mestiza Venezolana y menor a la reportada para poblaciones de origen afrocolombiano. El hecho de encontrar diferentes haplogrupos de origen Africano puede estar relacionado con los diferentes orígenes geográficos de los individuos que fueron ingresados como esclavos a nuestro país en el periodo de la conquista, según Del Castillo N<sup>213</sup>, ingresaron individuos de Yolofos, Angola, el Congo, Arará, Carabalí, Mina y Mozambique.

Los resultados obtenidos en el presente estudio son concordantes con los reportados por otros autores en cuanto a la composición Europea, Africana y Amerindia del pool genético colombiano, por ejemplo, Carvajal Carmona et al, indican que la composición del cromosoma Y en población antioqueña está dada por cromosomas Europeos, Africanos y Amerindios<sup>214</sup>, así mismo, Rodas et al.<sup>215</sup> establecen que *“En conclusión el estudio ... muestra diferentes patrones del pasado étnico de mezcla entre amerindios africanos y europeos en las distintas regiones geográficas de Colombia, aun cuando los rasgos culturales tiendan a desvanecer los reales orígenes de estas*

---

<sup>213</sup> DEL CASTILLO, Nicolás 1982, referenciado por FRIEDEMANN N. La saga del Negro. Op. Cit

<sup>214</sup> CARVAJAL Luis G. Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia En: Am. J. Hum. Genet. 2000. Vol 67 p.1287–1295

<sup>215</sup> RODAS C et al. Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and Mestizo Populations. Op Cit.

*manifestaciones*". En el mismo sentido se pronuncian Borrego M del C<sup>216</sup> y Acosta M.P.<sup>217</sup>

Comparando con los patrones étnicos de cromosoma Y en la región, Romero R Et al<sup>218</sup> indican que los linajes de STRs de cromosoma Y en la Costa Caribe Colombiana son mayoritariamente de origen Europeo, resultado que contrasta con la distribución de linajes mitocondriales que se ha obtenido en este estudio para la misma región.

En su mayoría, el componente mitocondrial en la región Caribe Colombiana es amerindio 76%, seguido por el componente Africano 18%, y en menor proporción Europeo(3%) y Asiático (1%), estos resultados confirman lo postulado por Mesa R et al<sup>219</sup> y Carvajal – Carmona et al<sup>220</sup> quienes indican que en la población no amerindia Colombiana han disminuido en gran proporción los linajes masculinos amerindios, pero a nivel de ADN mitocondrial los linajes amerindios son predominantes, lo cual sugiere que las uniones en esa época ocurrían preferencialmente entre mujeres nativas y hombres inmigrantes.

**3.7.1 Distribución de Haplogrupos por departamentos.** Se puede observar en las figuras No. 24 a 30 la distribución general de haplogrupos por cada departamento estudiado. Se observa que los haplogrupos amerindios A, B, C y D están presentes en todos los departamentos de la región con excepción de La Guajira en donde no se encontró representación del haplogrupo C, mientras que el X solamente se presenta en Bolívar, Magdalena y Sucre. Respecto a los haplogrupos Africanos, estos están representados en todos los departamentos. Los Europeos se observaron únicamente en Atlántico, Cesar y Córdoba. Las dos muestras que clasificaron dentro de haplogrupos Asiáticos provienen de Atlántico y Cesar. Las cuatro muestras que no se clasificaron dentro de ningún haplogrupo pertenecen a los departamentos de Bolívar, La Guajira y Sucre.

---

<sup>216</sup> BORREGO, María del Carmen . Op. Cit.

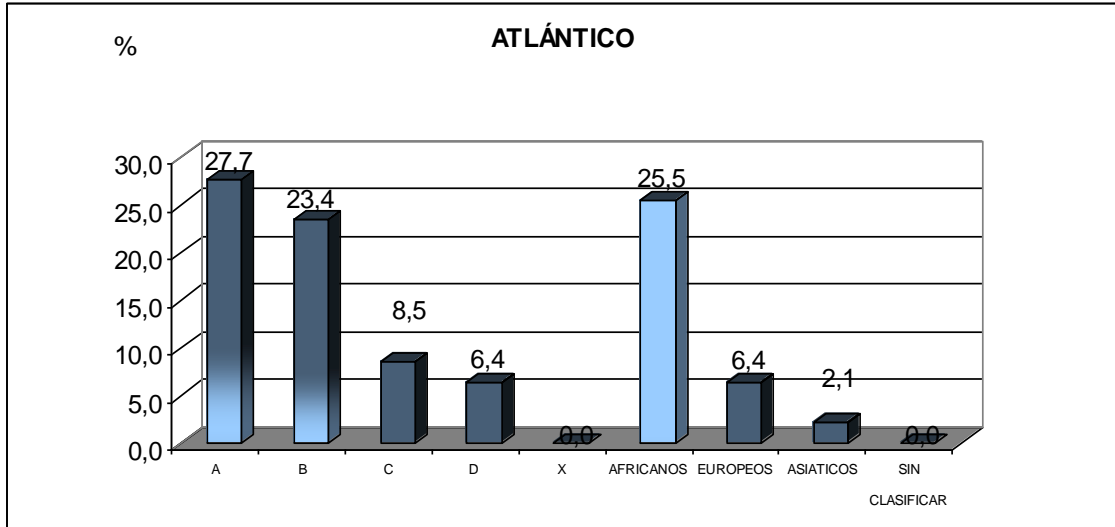
<sup>217</sup> ACOSTA M.P et al. Op. Cit.

<sup>218</sup> ROMERO R . E et al. A Colombian Caribbean population study of 16 Y-chromosome STR loci. En: Forensic Science International: Genetics. 2008 vol. 2 p. e5–e8

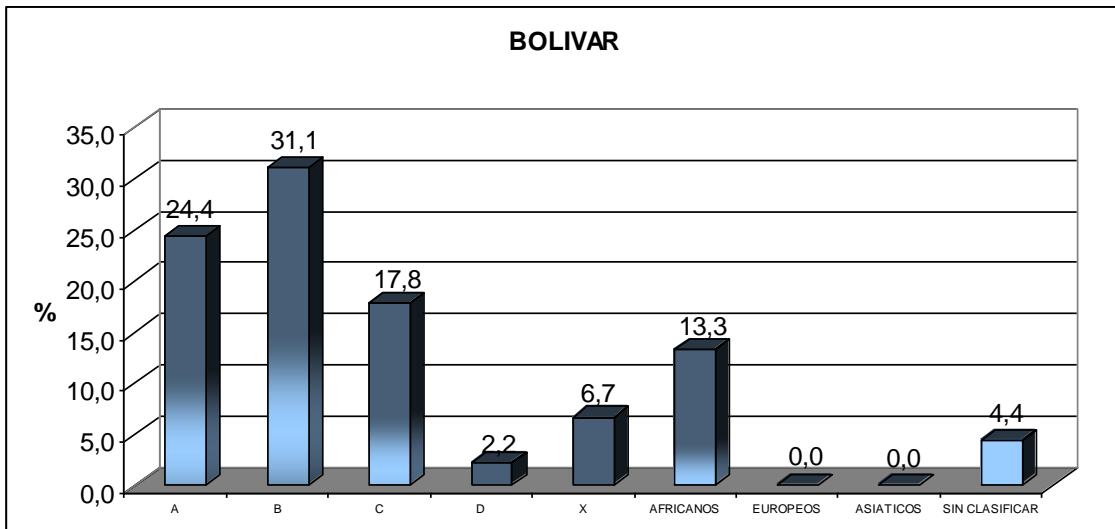
<sup>219</sup> MESA R. et al. Autosomal, mtDNA, and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre- and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America. En: Am. J. Hum. Genet. 2000 vol. 67 p.1277–1286

<sup>220</sup> CARVAJAL, Luis et al. Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia. En: Am. J. Hum. Genet. 2000 vol. 67 p. 1287–1295,

**Figura 24. Distribución de Haplogrupos en Atlántico**

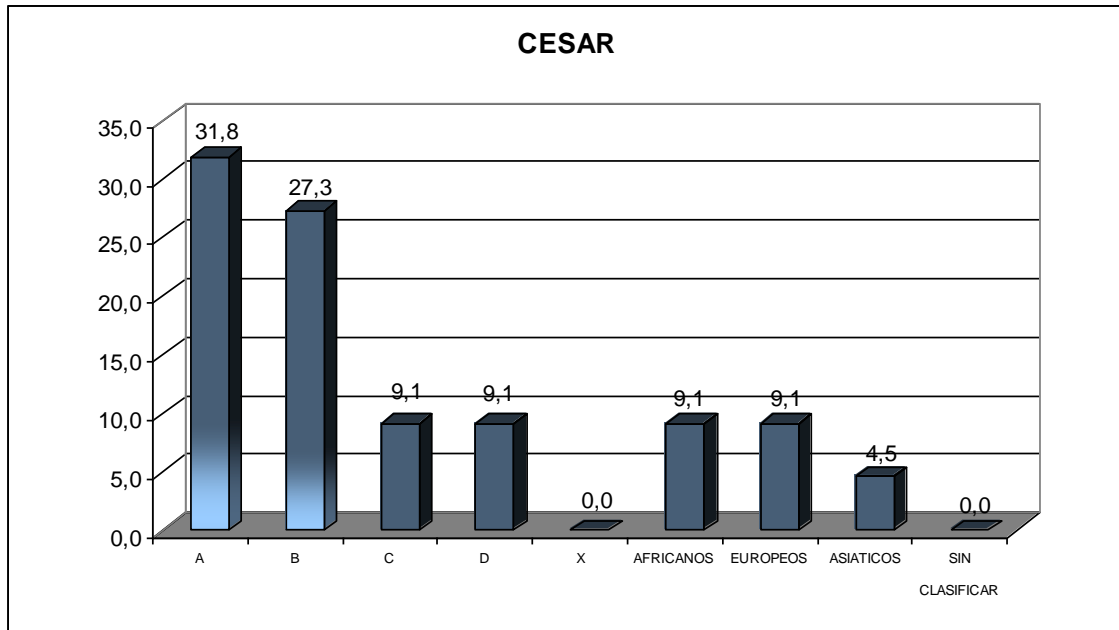


**Figura 25. Distribución de Haplogrupos en Bolívar.**

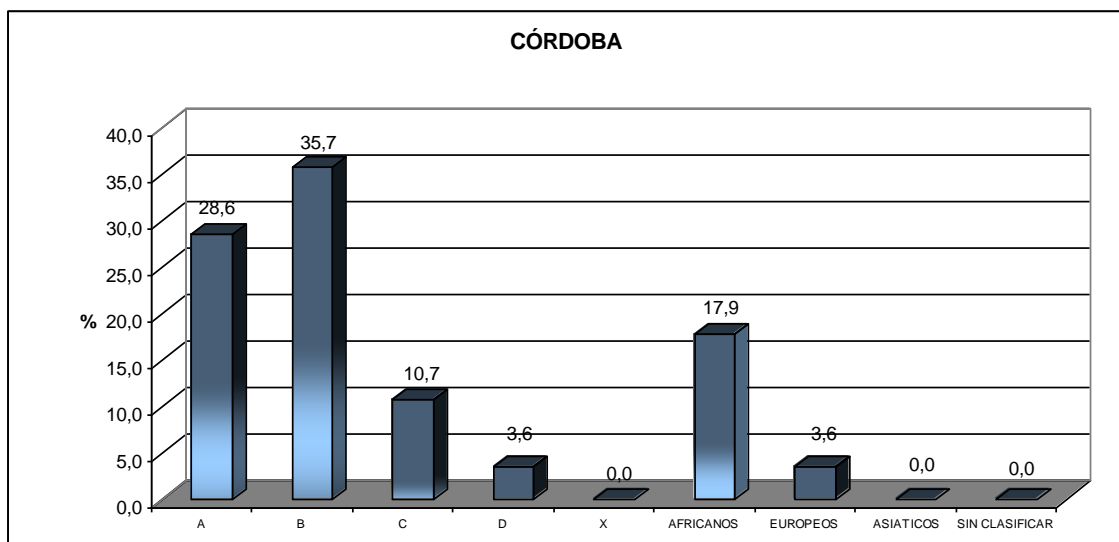




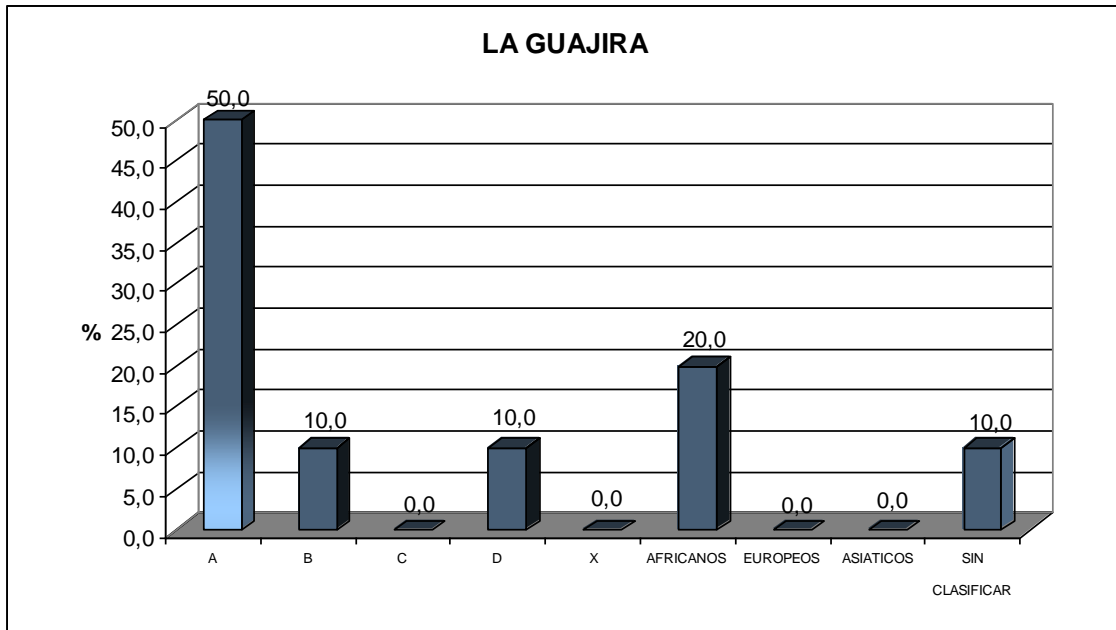
**Figura 26. Distribución de Haplogrupos en el Cesar.**



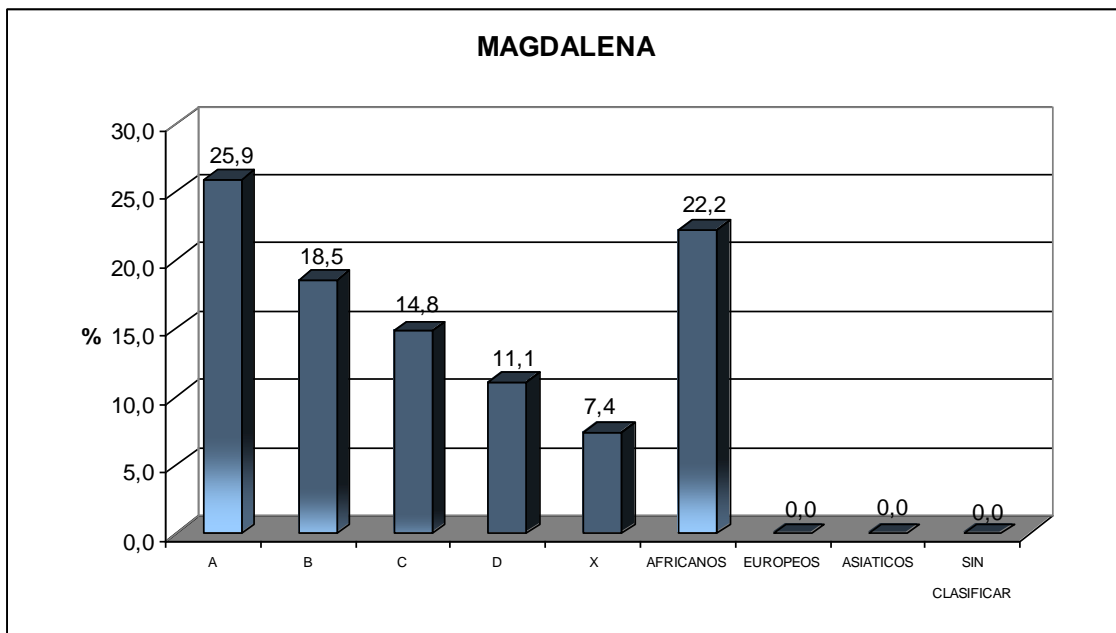
**Figura 27. Distribución de Haplogrupos en Córdoba.**



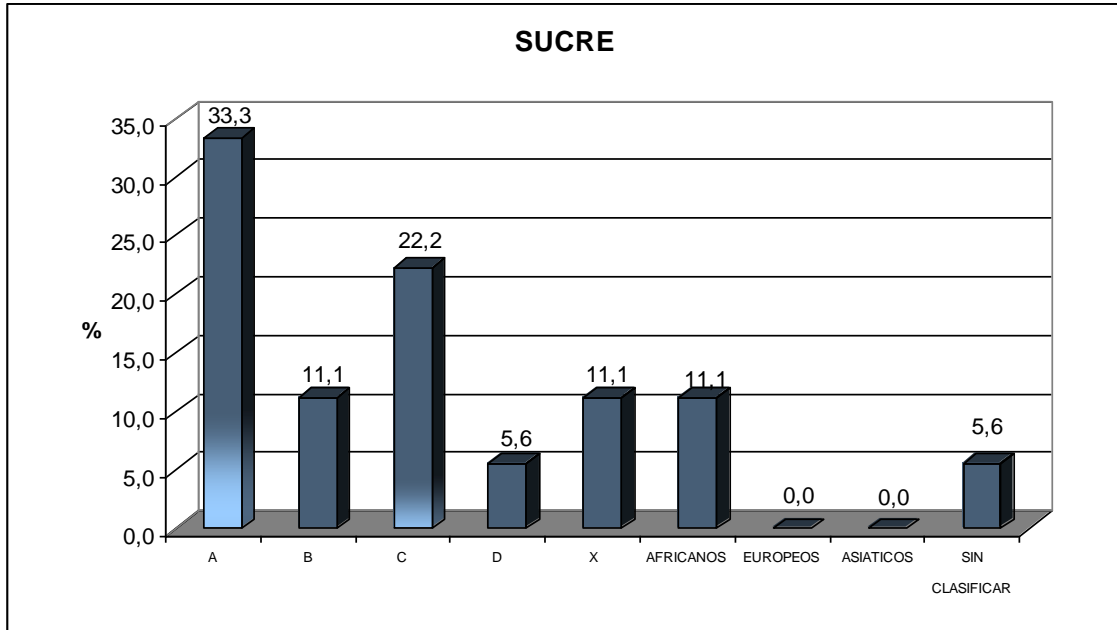
**Figura 28. Distribución de Haplogrupos en La Guajira.**



**Figura 29. Distribución de Haplogrupos en Magdalena.**



**Figura 30. Distribución de Haplogrupos en Sucre.**



En general, se observa la mayoría de la distribución hacia los haplogrupos amerindios A, B, C, D en todos los departamentos, con excepción de La Guajira donde no se encontró representación del C, esto se podría explicar por el escaso número de muestras (10) para este departamento. Estos haplogrupos predominan con respecto a los africanos y a su vez estos con los Europeos, conservando el mismo patrón observado en el análisis de toda la región Caribe. Este resultado se complementa con el análisis de FSTs que indica que no existen diferencias significativas entre los departamentos. Además se podría explicar porque el flujo de individuos se da entre departamentos en su mayoría de la misma región Caribe, según el Censo del 2005<sup>221</sup> lo que hace que no se marquen grandes diferencias en la distribución de estos haplogrupos en los departamentos.

Se realizaron pruebas de  $X^2$  para la distribución de haplogrupos por departamento, resultando que no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre la composición por departamentos de los haplogrupos amerindios vs los demás haplogrupos ni entre la composición de haplogrupos africanos vs los demás haplogrupos. Si bien, en el Atlántico y Magdalena se encuentra una composición mayor de haplogrupos africanos que en los demás departamentos, esta no es estadísticamente significativa.

<sup>221</sup> Ver Capítulo 1, numeral 1.7 Historia del poblamiento de la región Caribe Colombiana.

#### 4. CONCLUSIONES

La alta diversidad encontrada en la base de datos de los linajes mitocondriales del país para la Región Caribe Colombiana, indica que esta, puede ser empleada para reportar cálculos de probabilidad en los informes genético forenses con fines de filiación o de cotejo criminalístico.

El análisis de los estimadores poblacionales permitió determinar que no existe diferencia significativa en la composición mitocondrial de los departamentos Atlántico, Bolívar, Cesar, Córdoba, La Guajira, Magdalena y Sucre, por lo cual es posible emplear toda la base de datos construida en este estudio en la casuística de la Región Caribe Colombiana.

Se detectó un bajo porcentaje de heteroplasmías en las muestras secuenciadas.

Los linajes mitocondriales de la región provienen, en su mayoría de mujeres Amerindias de los haplogrupos A, B, C, D y en menor proporción X, sin embargo, la participación de linajes Africanos es importante en la composición de la región y los linajes Europeos constituyen la minoría, esto sumado a los hallazgos de haplotipos de cromosoma Y especialmente Europeos en la misma región, confirma la hipótesis de uniones preferentemente entre hombres Europeos y mujeres Amerindias o Africanas en la conquista y la colonia.

Los hallazgos reportados reafirman la composición triétnica del país, entre amerindios, africanos y europeos.

## 5. RECOMENDACIONES

Debido al alto grado de polimorfismo de la región control del ADN mitocondrial, es necesario construir bases de datos con mayor tamaño muestral, por lo cual se recomienda aumentar el número de muestras secuenciadas para la región Caribe Colombiana.

Hasta el momento, con fines forenses se han estudiado las regiones Cundiboyasence, Antioqueña y Caribe Colombianas en cuanto a la composición de la región control del ADN mitocondrial, se recomienda ampliar el estudio a otras regiones del país como la pacífica, amazónica, la Orinoquia y el archipiélago de San Andrés y Providencia.

Se sugiere validar la metodología para el uso de SNPs de la región codificante del ADN mitocondrial con el fin de aumentar el poder de discriminación de la prueba en casos forenses.

## BIBLIOGRAFÍA

ACHILLI, Alessandro et al. The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies. En: PLoS ONE 2008. vol. 3 No. 3 p. e1764. doi:10.1371/journal.pone.0001764

ACOSTA M.P et al. The Genetic Male Component of two South Western Colombian Populations. En: Forensic Science International: Genetics.2009 vol 3 p. e59–e61

AFONSO C. et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2008. vol 1. p. 259-261

----- . mtDNA diversity in Sudan (East Africa). En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008. Vol 1. P 257-258

ALBERTS, Bruce. et al. Molecular Biology of the cell. 4ta. Ed. New York. Garland Publishing. 2002. 1642p.

ALLARD M et al. Control region sequences for East Asian individuals in the Scientific Working group on DNA Analysis Methods forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine 2004. vol 6. p 11–24

ALVAREZ J. C. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. En: Legal Medicine. 2007. vol 9. p. 293–304

----- . Análisis de ADN mitocondrial. En: Forensica. 2001. vol 1. p. 40-59

ALVES-SILVA J et al. The Ancestry of Brazilian mtDNA Lineages En: Am. J. Hum. Genet. 2000. vol 67. P. 444–461

AMARÍS M.y CEPEDA J. Revisión Bibliográfica analítica sobre los elementos culturales de la familia de los pueblos amerindios, Kogui y Wayuu. En: Psicología desde el Caribe. 2005.Diciembre No. 016.p.128-147

ANDERSON S et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. En: Nature. 1981. vol 290(5806) p. 457-65

ANDREASSON H, et al. Forensic mitochondrial coding region analysis for increased discrimination using pyrosequencing technology. En: Forensic Science International: Genetics 2007. vol 1. p. 35-43

ANDREWS, Richard M. et al., "Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA" En: Nature Genetics.1999. vol 23., No. 2 p. 147

APPLIED BIOSYSTEMS. Bigdye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit. Protocol. 2002. Número de Parte 4337035. 2002

BAILLIET, Graciela et al. Founder Mitochondrial Haplotypes in Amerindian Populations En: Am. J. Hum. Genet. 1994. vol 54. p. 27-33

BALLARD D. et al. SNPs. En: Short Course in Forensic Genetics Personalized Training for ICRC practitioners and stakeholders, to help meet their needs in field. School of Forensic and Investigative Sciences. (2009: University of Central Lancashire, Preston, U.K.)

BANDELT H.J., et al. The fingerprint of phantom mutations in mitochondrial DNA data. En: Am. J. Hum. Genet..2002. vol 71 No. 5. p. 1150–1160.

BERG J. Biochemistry. USA. Freeman and company. 2002. Consultado en: <http://ghr.nlm.nih.gov/handbook.pdf>. el 2009-05-20

BINI C y PAPPALARDO G, mtDNA HVI length heteroplasmic profile in different tissues of maternally related members En: Forensic Science International 2005. vol 152. p 35–38

BINI, C et al. Polymorphism of mitochondrial DNA D-loop in Rimini and Valmarecchia areas in the North of Italy. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2008 vol.1 p. 262–263

BONATTO Sandro y SALZANO, Francisco. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data En: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997. vol. 94. p. 1866–1871

BORREGO, María del Carmen. La Conformación de una Sociedad Mestiza en la Época de los Austrias. En: Historia Económica y Social del Caribe Colombiano. Bogotá: Ecoe Ediciones, 1994. 312p.

BRANDON M.C., MITOMAP: A human mitochondrial genome database – 2004 update. En: Nucleic Acids Research 33 (Database Issue):D611-613, 2005. Disponible en: <http://www.mitomap.org>

BRANDSTATTER Anita et al. Generating population data for the EMPOP database—An overview of the mtDNA sequencing and data evaluation processes considering 273 Austrian control region sequences as example. En: Forensic Science International. 2007. vol 166. p. 164–175

BRETTELL T.A et al. Forensic Science. En: Anal. Chem. 2005. vol 77, p. 3839-3860

BRISIGHELLI F. et al. Exploring mitochondrial DNA variation in the Italian Peninsula En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2008 vol 1 p. 264–265

BROWN D et al. mtDNA Haplogroup X: An Ancient Link between Europe / Western Asia and North America? En: Am. J. Hum. Genet. 1998 vol 63 p.1852–1861

BUCKLENTON J et al. Nonautosomal Forensic Markers En: Forensic DNA Evidence Interpretation. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2005. p. 2-25.

BUDOWLE B et al. Forensics and Mitochondrial DNA: Applications, Debates, and Foundations. En: Annual Review of Genomics and Human Genetics. 2003. vol 4 p. 119-141.

------. Stabilizing mtDNA sequence nomenclature with an operationally efficient approach. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2008 vol 1.p. 671–673

------. Addressing the use of phylogenetics for Identification of Sequences in Error in the SWGDAM Mitochondrial Database. En: Journal of Forensic Sciences. 2004. vol 49 No. 6. p. 1256 – 61

BUDOWLE, Bruce. Interpretation Guidelines for Mitochondrial DNA Sequencing. Presentado en el X Simposio Interhacional de Identificación Humana ,10th, Madison, Wis., 1999 . Disponible en <http://www.promega.com/ussymp10proc/default.htm>.

BUTLER J y COBLE M. NEAFS Y-mtDNA Workshop. 2006. Disponible en: <http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/training.htm>

BUTLER J. Advanced Topics in Forensic DNA Analysis Training Workshop National Institute of Standards and Technology.2006

------. Recent developments in Y-Single Tandem Repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. En: Forensic Sci Rev. 2003. vol 15, p. 91-111

CALLOWAY C et al. The Frequency of heteroplasmy in the HVII region of mtDNA differs across tissue types and increases with age. En: American Journal of Human Genetics 2000. vol 66 No.4 p. 1384-97



CAMPOS-SÁNCHEZ R et al. Genetic Structure Analysis of Three Hispanic Populations from Costa Rica, Mexico, and the Southwestern United States Using Y-Chromosome STR Markers and mtDNA Sequences. En: Human Biology 2006. Vol 78(5) p. 551-563

CARDOSO S. et al. Mitochondrial DNA in Huaorani (Ecuadorian Amerindians): A new variant in haplogroup A2. En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008. vol 1 p. 269–270

CARVAJAL Luis G. Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia En: Am. J. Hum. Genet. 2000. Vol 67 p.1287–1295

CHENG-YAP. Shee. Mitochondrial DNA hypervariable region 1 polymorphism in Singapore Chinese population En: Legal Medicine. 2005. vol 7. p. 127–133

CINEP – COLCIENCIAS. Colombia, país de regiones. Tomo 1, Bogotá: CINEP, 1998. 312 p.

COLOMBIA.CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley 721 (24,diciembre,2001). Por la cual se modifica la Ley 75 de 1968.Diario Oficial. Bogotá, D.C., 2001. No.44.661.

COOPER, Geoffrey M. The Cell. A molecular Approach. 2da Ed. U.S.A: Sinauer Associates. 2000.

COSTA A. Mitochondrial DNA sequence analysis of native Bolivians population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series vol 1 2008 p. 259–261.

CURTIN et al. The Atlantic slave trade: a census. University of Wisconsin Press, Madison 1969. Citado por CARVAJAL-CARMONA Luis G., Strong Amerind/White Sex Bias and a Possible Sephardic Contribution among the Founders of a Population in Northwest Colombia En: Am. J. Hum. Genet. 2000. vol 67. p.1287–1295

DANIELSON P et al. Resolving mtDNA mixtures by denaturing high-performance liquid chromatography and linkage phase determination. En: Forensic Science International: Genetics 2007. vol 1. p. 148–153

DECORTE, Ronny y CASSIMAN, Jean-Jacques. Forensic medicine and the polymerase chain reaction technique En: J Med Genet 1993. vol 30, p. 625-633

DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (DANE). Colombia Una Nación Multicultural: Su diversidad Etnica. Bogotá DANE:2007

----- Cuadro Censo 2005. Cuadro 4.9 Población total censada, por departamento de nacimiento, según departamento de residencia actual. En: <http://www.dane.gov.co/censo/files/cuadros%20censo%202005.xls> consultada 2009-09-08

----- . Migración Interna en Colombia a partir del Censo General del 2005. Disponible en: [www.dane.gov.co](http://www.dane.gov.co) consultado marzo de 2007.

DERENKO Miroslava et al. Phylogeographic Analysis of Mitochondrial DNA in Northern Asian Populations. En The American Journal of Human Genetics. 2007. vol 81. p.1025-1041

DRAGANA Z. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA control region in the population of Vojvodina Province, Serbia. En: Legal Medicine 2010. vol 12. p. 104-107

ENDICOTT P y SIMON Y.W. A Bayesian Evaluation of Human Mitochondrial Substitution Rates En: The American Journal of Human Genetics 2008. Vol 82. p. 895–902

EXCOFFIER L. et al. Arlequin V 3.1. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG) Institute of Zoology University of Berne Disponible en: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>

FELICIANO A. genetic prints of amerindian female migrations through the caribbean revealed by control sequences from dominican haplogroup A mitochondrial DNAs. Trabajo de Grado. Maestría en Ciencias. Universidad de Puerto Rico. 2006

FORSTER P et al. Origin and evolution of native American mDNA variations a reappraisal. Citado por: RIPAN S. et al. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. Vol 70. p. 905–919

FRIEDEMANN N. La saga del Negro. Bogotá: Instituto de Genética Humana. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Javeriana. 1993

----- . Citado por: RODAS C et al. Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and Mestizo Populations. En: Human Biology. 2003. Vol. 75 No. 1. P 13-30

GILL Peter y BUCKLETON J. Biological Basis for DNA Evidence. En: Forensic DNA Evidence Interpretation. Boca Raton, Florida. CRC Press. 2005. p. 2-25

GILL, Peter. et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. En: Nature Genetics 1994. vol 6. P. 130 - 135

GODINHO et al. Regional patterns of genetic admixture in South America En: Forensic Science International : Genetics Supplement Series. 2008. vol 1. p. 329–330

GOODWIN, W. et al. An introduction to Forensic Genetics. UK. John Wiley and Sons. 2007. p. 138

HEDMAN, M. et al. Finnish mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II population data En: Forensic Science International 2007 vol 172 p.171–178

HELGASON, A et al. mtDNA and the Origin of the Icelanders: Deciphering Signals of Recent Population History. En: Am. J. Hum. Genet. 2000. Vol 66. P 999–1016.

HEYER, E et al. Phylogenetic and Familial Estimates of Mitochondrial Substitution Rates: Study of Control Region Mutations in Deep-Rooting Pedigrees En: Am. J. Hum. Genet. 2001. Vol. 69.p 1113–1126

HOLLAND M. et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War En: J Forensic Sci. 1993 May. vol 38(3) p. 542-53.

HOLLAND, M.M, y PARSONS, T.J. Mitochondrial DNA Sequense analysis – Validation and use for forensic casework. En: Forensic Science Review.1999. vol 11 No. 1.

IMAIZUMI, K, et al. A new database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences from 162 Japanese individuals. En: Int J Legal Med 2002 vol. 116. p. 68–73. Citado por: KAZUO, U. Recent progress in mitochondrial DNA analysis En: Legal Medicine 2005. vol 7. p. 259–262

INGMAN, M y GYLLENSTEN U. Mitochondrial Genome Variation and Evolutionary History of Australian and New Guinean Aborigines. En: Genome Research. 2003 vol.13. p.1600–1606

----- mtDB: Human Mitochondrial Genome Database, a resource for population genetics and medical sciences. En: Nucleic Acids Res 2006. vol 34, D749-D751.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. Requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayo y calibración. NTC-ISO-IEC 17025. Bogotá D.C. ICONTEC 2005

IRWIN, J. Mitochondrial DNA control region variation in a population sample from Hong Kong, China En: Forensic Science International: Genetics in press

JAZIN E, et al. Human brain contains high levels heteroplasmy in the noncoding regions of mitochondrial DNA. En: Proc Natl Acad Sci USA. 1996. vol 93. p. 12382-87. Referenciado por: CRESPILO M. ADN mitocondrial Interpretación y Valoración de Resultados. Curso Virtual de Genética Forense. Universidad de Zaragoza. 2008

JORDE ,L. B. et al. The Distribution of Human Genetic Diversity: A Comparison of Mitochondrial, Autosomal, and Y-Chromosome Data. En: Am. J. Hum. Genet. 2000. vol 66. p. 979–988

JUN JIN, H. et al. Forensic genetic analysis of mitochondrial DNA hypervariable region I/II sequences: An expanded Korean population database. En: Forensic Science International 2006. vol 158 p.125–130

KAZUMASA, S. Mitochondrial DNA Heteroplasmy Among Hairs from Single Individuals. En: J. Forensic Sci. 2004 vol. 49(5) p.986-990

KAZUO, U. Recent progress in mitochondrial DNA analysis En: Legal Medicine 2005. vol 7. p. 259–262

KEYEUX, G et al. Possible migration routes into South America deduced from mitochondrial DNA Studies in Colombian Amerindian Populations. En: Human Biology. 2002. Vol 74 No. 2. p. 211

KLINE M et al. Mitochondrial DNA Typing Screens with control region and coding region SNPs. En: J Forensic Sci, 2005, Vol. 50(2). p.377-385

KOYAMA, H, et al. Mitochondrial sequence haplotype in the Japanese population. En: Forensic Sci Int. 2002. vol 125. p.93–6. Citado por: KAZUO, U. Recent progress in mitochondrial DNA analysis En: Legal Medicine 2005. vol 7. p. 259–262

KURLAND, C.G. y ANDERSSON G.E. Origin and Evolution of the Mitochondrial Proteome. En: Microbiology and Molecular Reviews. 2000. vol 64 No. 4. p. 786-820

LANDER N et al. Analysis of variable regions of mtDNA in Venezuelan population En: Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008. vol 1. p. 346–347

----- . Haplotype. diversity in human mitochondrial DNA hypervariable regions I–III in the city of Caracas (Venezuela). En: Forensic Science International: Genetics 2008. vol 2. e61–e64

LEE, H.W et al. mtDNAmanager: a Web-based tool for the Management and Quality Análisis of Mitochondrial DNA- control-region sequences. En: BMC Bioinformatics. 2008 vol 9 p.483

LEHOCKY I et al. A database of mitochondrial DNA hypervariable regions I and II sequences of individuals from Slovakia. En: Forensic Science International: Genetics. 2008. vol 2. e53–e59

LIZARAZO. R. Variación de la secuencia en las regiones hipervariables I y II del asa de desplazamiento del ADNmt en una muestra de la población de Santa fe de Bogotá y su aplicación en la práctica forense. Trabajo de grado. Magíster en Biología. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias. Bogotá. 1999.

MALHI R. et al. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. vol 70 p. 905–919

MARGULIS, L. Origin of eukariotic cells. Citado por KURLAND, C.G.

MARK A, Jobling y GILL, Peter. Encoded Evidence: DNA In Forensic Analysis. En: Nature Reviews Genetics. Octubre 2006. vol. 5, p. 739 – 751

MARUYAMA S. et al. Sequence polymorphisms of the mitochondrial DNA control region and phylogenetic analysis of mtDNA lineages in the Japanese populations. En: Int J Legal Med 2003. Vol 117. p. 218–25. Citado por:

MATHIEU Nicolas . Población Aborígen y Conquista. 1498 - 1540 . En: Historia Económica y Social del Caribe Colombiano. Bogotá: Ecoe Ediciones, 1994. 312p.

MELTON T y NELSON K Forensic Mitochondrial DNA Analysis: Two Years of Commercial Casework Experience in the United States. En: Croatian Medical Journal.2001. vol 42 No.3. p.298-303.

MENDOZA R et al. Terrenos de la Gran Expedición Humana. Serie Reportes de Investigación No. 6. Aspectos demográficos de las poblaciones indígenas, negras y asiladas visitadas por la Gran Expedición Humana. Bogotá:

Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana. JAVEGRAF 1988.

MESA, Natalia R. et al. Autosomal, mtDNA, and Y-Chromosome Diversity in Amerinds: Pre - and Post-Columbian Patterns of Gene Flow in South America En: Am. J. Hum. Genet. 2000 vol 67. p :1277–1286

METSPALU, M et al. Most of the extant mtDNA boundaries in South and Southwest Asia were likely shaped during the initial settlement of Eurasia by anatomically modern humans. En: BMC Genetics 2004. vol 5:26 doi:10.1186/1471-2156-5-26.

MITOMAP: MtDNA Control Region Sequence Polymorphisms. Editada 2009-10-12

MONSON K.L, The mtDNA Population Database: An Integrated Software and Database Resource for Forensic Comparison. En: Forensic Science Communications, 2002. Vol 4 No. 2. Base de datos disponible en: [www.fbi.gov/hq/lab/fsc/april2002/mtDNAhtm](http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/april2002/mtDNAhtm)

MORA C. Análisis genético de la variación de las secuencias de las regiones HVI y HVII del Asa de desplazamiento del ADN mitocondrial humano (D-Loop), en 100 individuos residentes en la región Cundiboyasence. Trabajo de grado. Magister en Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes. 2008

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST), BUTLER M, Advanced Topics in Forensic DNA Analysis. mtDNA. New Jersey State Police Training Workshop Hamilton, NJ , 2006

NILSON M et al. Evaluation of mitochondrial DNA coding region assays for increased discrimination in forensic análisis. En: Forensic Science International: Genetics 2008. vol 2. p. 1 – 8

NORTHEASTERN ASSOCIATION OF FORENSIC SCIENTISTS (NEAFS). 2006 Workshop. Butler J, Coble M. Y-Chromosome and Mitochondrial DNA analysis.

PANETO G. et al. Heteroplasmy in hair: Differences among hair and blood from the same individuals are still a matter of debate. En: Forensic Science International 2007. vol 173 p. 117–121

PARR, R et al. The pseudo-mitochondrial genome influences mistakes in heteroplasmy interpretation. En: BMC Genomics 2006, 7:185 doi:10.1186/1471-2164-7-185

PARSON W. Population data for 101 Austrian Caucasian mitochondrial DNA D-loop sequences: Application of mtDNA sequence analysis to a forensic case. En: Int J Legal Med 1998.vol 111. p. 124–132

PARSON WALTHER .Institute of Legal Medicine, Innsbruck Medical University. Austria. Disponible en [www.empop.org](http://www.empop.org)

PARSON, W y BANDELT, H. Extended guidelines for mtDNA typing of population data in forensic science. En: Forensic Science International: Genetics. 2008 vol 1(1). p 13-19

POSADA D. Eduardo. El Caribe Colombiano Una historia Regional.(1870-1950). Bogotá: Banco de la República, El Ancora Editores, 1998. 507 p.

PRIETO A, et al. 2006 GEP-ISFG collaborative exercise on mtDNA: reflections about interpretation, artefacts, and DNA mixtures. En: Forensic Science International: Genetics 2008. Vol 2 126–133

PRINZ M et al. DNA comisión of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). En: Forensic Science International: Genetics . 2007 . vol 1. p. 3-12

RICKARDS O et al. mtDNA History of the Cayapa Amerinds of Ecuador: Detection of Additional Founding Lineages for the Native American Populations En: Am. J. Hum. Genet.1999. vol 65 p.519–530

ROA. M. Polimorfismos de la región control del ANDmt humano en una muestra de población mestiza del altiplano Cundiboyacense Colombiano. Trabajo de grado Magíster en Genética Humana. Bogotá D.C. 2005.

ROBIN,E.D, y WONG R. Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells. En: J Cell Phys. 1988. vol 136. p. 507

RODAS PEREZ, M.C. Análisis Genético Molecular de los Haplogrupos Fundadores del DNA mitocondrial en América en Poblaciones Colombianas. Trabajo de Grado. Magister en Biología con énfasis en Genética. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana . Facultad de Ciencias. 1997.

RODRIGUEZ DELFIN, Luis A. et al. Genetic Diversity in an Andean Population from Peru and Regional Migration Patterns of Amerindians in South America: Data from Y Chromosome and Mitochondrial DNA En: Hum Hered 2001. vol 51 p.97–106

ROMERO A et al. Los grupos étnicos en los censos de población. Colombia una Nación Multicultural, Su Diversidad Étnica. Bogotá: Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas. Dirección de censos y Demografía, 2007.

ROMERO A. Determinación de los Polimorfismos de Secuencia de las Regiones Hipervariables I Y II del ADN Mitocondrial Humano y Establecimiento de una Base de Datos para Uso Forense. Trabajo de Grado. Biología. Universidad del Tolima. 2007

ROMERO R . et al. A Colombian Caribbean population study of 16 Y-chromosome STR loci. En: Forensic Science International: Genetics. 2008 vol. 2 p. e5–e8

SALAS A et al. The African Diaspora: Mitochondrial DNA and the Atlantic Slave Trade. En: Am. J. Hum. Genet. 2004. vol 74. p.454–465

----- . Phylogeographic investigations: The role of trees in forensic genetics En: Forensic Science International 2007. vol 168. p. 1–13

----- . The Making of the African mtDNA Landscape. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. vol 71 p. 1082–1111

SARANATH, et al. 2003. MITOMAP mtDNA Sequence Data, <http://www.mitomap.org/cgi-bin/tbl15gen.pl#20030529047>

SANCHEZ A et al. Sequence polymorphisms of the mtDNA control region in a human isolate: the Georgians from Swanetia. En: J Hum Genet 2006. Vol 51 p. 429–439

SCHEFFLER I. Mitochondria. New York. Wiley-Liss, 2007. p 19.

SCHNEIDER, Peter . Scientific standards for studies in forensic genetics. En: Forensic Science International 2007. vol 165 p. 238–243

SCHURR et al. 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. Citado por: RIPAN S. et al. The Structure of Diversity within New World Mitochondrial DNA Haplogroups: Implications for the Prehistory of North America. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. Vol 70. p. 905–919

SCIENTIFIC WORKING GROUP ON DNA ANALYSIS METHODS (SWGDM). Guidelines for Mitochondrial DNA (mtDNA) Nucleotide Sequence Interpretation. En: Forensic Science Communications 2003. vol 5. No. 2



SEKIGUCHI K et al. Mitochondrial DNA population data of HV1 and HV2 sequences from Japanese individuals En: Legal Medicine 2008. vol 10. p. 284–286

SILVA W. et al. Mitochondrial Genome Diversity of Native Americans Supports a Single Early Entry of Founder Populations into America. En: Am. J. Hum. Genet. 2002. Vol. 71 p.187–192

STEIGHNER, R.J. et al. Comparative Identity and Homogeneity Testing of the mtDNA HVI Region Using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. En: J. Forensic Sci. 1999. vol. 44(6) p.1186-1198

STONEKING M et al. Population Variation of Human mtDNA Control Region Sequences Detected by enzymática Amplification and Sequence-specific oligonucleotide probes. En: American Journal of Human Genetics. 1991. vol 48 p.370-382.

STRACHAN, Tom y READ, Andrew. Extragenic repeated DNA sequences and transposable elements. En: Human Molecular Genetics 2. New York. Garland Sciences. 1999

SWGDM, Guidelines for mitochondrial DNA (mtDNA) nucleotide sequence interpretation. En: Forensic Sci. Commun 2003 vol. 5 [Online]. <http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2003/swgdammitodna.htm>

TERREROS IBÁÑEZ, Grace Alexandra. Caracterización Genética de una muestra de individuos nacidos en Santafé de Bogotá, mediante los loci HLA DQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC. Trabajo de Grado Bióloga. Santafé de Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología, 1998.

TETZLAFF S. Mitochondrial DNA population data of HVS-I and HVS-II sequences from a northeast German simple. En: Forensic Science International 2007. Vol 172. p 218–224

TORRONI A, et al. mtDNA Analysis Reveals a Major Late Paleolithic Population Expansion from Southwestern to Northeastern Europe. En: Am. J. Hum. Genet. 1998. vol. 62 p. 1137–1152

------. Asian Affinities and Continental Radiation of the Four Founding Native American mtDNAs. En: Am. J. Hum. Genet.1993. vol 53. p.563-590

VIGILANT L.et al. Mitochondrial DNA sequence in single hairs from a southern african population. En: Proc Natl Acad Sci. USA. 1989. Vol 86. p.935-954

VOLODKO, Natalia. et al. Mitochondrial Genome Diversity in Arctic Siberians, with Particular Reference to the Evolutionary History of Beringia and Pleistocenic Peopling of the Americas. En: The American Journal of Human Genetics 2008. vol.82. p. 1084–1100

WILSON M y DIZINNO J.. Vatisation of mitochondrial DNA sequencing for forensic casework analysis. En: Int J Legal Med. 1995. vol 108 p. 68-74

WONG Y. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 205 Singapore Malays. En: Legal Medicine 2007. Vol 9 p. 33–37

YAP S. C, et al. Mitochondrial DNA hypervariable region 1 polymorphism in Singapore Chinese population. En: Legal Medicine 2005 vol 7. p. 127–133

YONG-GANG Yao et al. A call for mtDNA data quality control in forensic science. En: Forensic Science International 2004. vol 141 p.1–6

**ANEXO A**  
**FRECUENCIA DE LOS HAPLOTIPOS**