

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

ESTUDIO PRELIMINAR DE LOS PATRONES

ELECTROFORETICOS DE LA

ISOENZIMA PGM (FOSFOGLUCOMUTASA) EN GUATEMALA

**BIBLIOTECA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

SILVANA MASELLI DE SANCHEZ

Trabajo de investigación para optar al grado  
académico de Licenciada en Biología

Guatemala

1992

ESTUDIO PRELIMINAR DE LOS PATRONES ELECTROFORETICOS DE LA  
ISOENZIMA PGM (FOSFOGLUCOMUTASA) EN GUATEMALA

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

ESTUDIO PRELIMINAR DE LOS PATRONES

ELECTROFORETICOS DE LA

ISOENZIMA PGM (FOSFOGLUCOMUTASA) EN GUATEMALA

BIBLIOTECA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

SILVANA MASELLI DE SANCHEZ

Trabajo de investigación para optar al grado  
académico de Licenciada en Biología

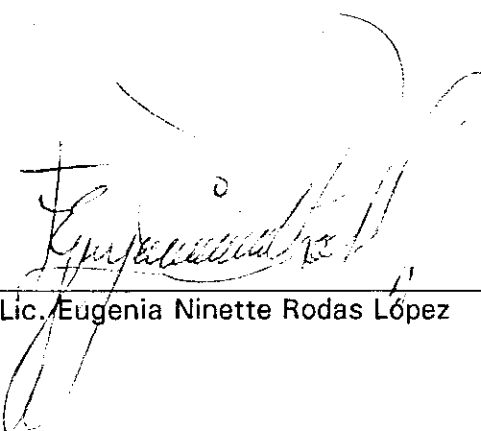
Guatemala

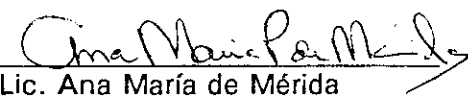
1992

Vo. Bo.

(f)   
Lic. Celia Cordón de Rosales  
Asesora

Tribunal:

(f)   
Lic. Eugenia Ninette Rodas López

(f)   
Lic. Ana María de Mérida

## AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a Dios y a su hijo Jesús, por devolverme la salud para poder llevar a cabo este trabajo de tesis.

Al Laboratorio de Criminalística del Gabinete de Identificación de la Policía Nacional, por brindarme toda su colaboración para realizar esta investigación.

A "International Criminal Investigation Training Assistance Program" (ICITAP) del Departamento de Justicia de Los Estados Unidos, por su apoyo técnico, para desarrollar e implementar la técnica utilizada en este estudio.

A mis asesoras, Lic. Eugenia Rodas, Sub-Jefe del Laboratorio de Criminalística de la Policía Nacional, por brindarme la oportunidad de trabajar en ese laboratorio; por compartir conmigo sus conocimientos; por su paciencia, generosidad, apoyo, amistad y muchas oraciones. A la Lic. Celia Cordón de Rosales, de la Universidad del Valle, por hacerse cargo como asesora principal de este trabajo de tesis, por sus correcciones, sugerencias y apoyo en general. A la Lic. Ana María de Mérida, por aceptar ser mi asesora, por sus correcciones, apoyo y paciencia.

Al Lic. José Miguel Ridelman, por su ayuda para realizar el análisis estadístico. Al Lic. Manuel Chinchilla, por su incondicional ayuda y expertise en las aplicaciones computarizadas del análisis de datos.

A todas las personas que en alguna u otra forma ayudaron con su colaboración para el desarrollo y conclusión de este estudio.

## RESUMEN

Se tomaron 388 muestras sanguíneas de hombres y mujeres de nueve departamentos de Guatemala, para evaluar la expresión y distribución de los diez fenotipos (1-, 1+1-, 1+, 2+1-, 2+1+, 2-1-, 2-1+, 2-, 2+2-, 2+) de la enzima fosfoglucomutasa (PGM), donde se utilizó la técnica de electroforesis de agarosa de electroendosmosis cero.

Los fenotipos 1+1- y 2+2- presentaron respectivamente las frecuencias mayores y menores, 31.7% y 1.03% entre los nueve departamentos. Estadísticamente, la distribución de los diez fenotipos fue la misma en cada uno de los nueve departamentos; no habiéndose encontrado asociación entre la expresión del fenotipo y el origen geográfico de la muestra. Sin embargo los resultados sugieren la asociación del fenotipo 1+1- con grupo étnico, en los departamentos con mayor porcentaje de población indígena (Totonicapán, Cobán y Huehuetenango). Mientras que en los departamentos donde predomina la población ladina (Zacapa, Puerto Barrios, Chiquimula), no existe esa asociación.

Los fenotipos pueden agruparse en tres categorías, según su frecuencia: categoría uno (fenotipos 1-, 1+1-, 1+) con las frecuencias más altas; categoría dos (fenotipos 2+1-, 2+1+, 2-1-, 2-1+) con las frecuencias intermedias y categoría tres (fenotipos 2-, 2+2-, 2+) con las frecuencias más bajas.

## PREFACIO

El presente trabajo de tesis forma parte de un estudio más amplio realizado en el Laboratorio de Criminalística de la Policía Nacional de Guatemala. Abarca el análisis de la expresión fenotípica de la fosfoglucomutasa (PGM), siendo un complemento al desarrollo e implementación de técnicas electroforéticas para el estudio de seis enzimas más (fosfatasa ácida del eritrocito, glyoxalasa, esterasa D, adenilato kinasa, fosfoglucomutasa convencional y deaminasa adenosínica).

La finalidad del proyecto en su totalidad fue evaluar la expresión fenotípica de éstas enzimas como marcadores genéticos de la población de Guatemala.

Tanto la estudiante, como sus asesoras y la Universidad del Valle de Guatemala, no se hacen responsables de los usos que el Laboratorio de Criminalística de la Policía Nacional pueda dar a la información que aquí se presenta.

## CONTENIDO

	Pagina
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	i
PREFACIO	ii
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	2
III. REVISION DE LITERATURA	3
IV. MATERIALES Y METODOS	8
A. Obtención de la muestra	8
B. Preparación de la muestra	8
C. Preparación de soluciones stock	8
D. Electroforesis	8
E. Revelado de la muestra	10
F. Mecanismo de reacción de la PGM durante la electroforesis	10
G. Lectura de resultados	11
H. Análisis estadístico de los resultados	12
V. RESULTADOS	16
VI. DISCUSION	26
VII. RECOMENDACIONES	29
VIII. CONCLUSIONES	31
IX. LITERATURA CITADA	32

## APENDICES

A. Preparación de soluciones stock para electroforesis de agarosa de electroendosmosis cero	35
B. Glosario	36
C. Cálculo de las frecuencias genéticas según Ley de Hardy-Weinberg	37
D. Cálculos de chi-cuadrado para comparar las frecuencias fenotípicas observadas con las frecuencias fenotípicas esperadas	39
E. Lista de reactivos y equipo, fuentes y No. de catálogo para llevar a cabo la electroforesis de electroendosmosis cero	40

## LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

Figura	Página
1. Esquema de las bandas "a" a la "g" del locus 1 en PGM <sub>1</sub> , separadas por electroforesis	5
2. Esquema del patrón electroforético de la PGM <sub>1</sub> sub-tipo separado en servalyt precotes	6
3. Modelo de identificación de las muestras	9
4. Mecanismo de reacción de la PGM durante el revelado de las muestras	11
5. Frecuencias fenotípicas de la PGM <sub>1</sub> en muestras de sangre de nueve departamentos de Guatemala y de la población hispana del Condado de Los Angeles, Estados Unidos	21
<b>Cuadro</b>	
1. Presentación fenotípica de la PGM <sub>1</sub> en muestras de sangre de nueve departamentos de Guatemala	17
2. Porcentaje de habitantes indígenas y ladinos por departamento estudiado, según censo poblacional de 1981	18
3. Frecuencias genéticas calculadas con base en frecuencias fenotípicas de la PGM <sub>1</sub> en muestras de sangre de nueve departamentos de Guatemala	19
4. Análisis estadístico con diez "cluster" de las frecuencias fenotípicas de la PGM <sub>1</sub> de nueve departamentos de Guatemala	23
5. Análisis estadístico con tres "cluster" de las frecuencias fenotípicas de la PGM <sub>1</sub> de ocho departamentos excluyendo a Guatemala	24
5.A. Centros finales del análisis estadístico con tres "cluster" de las frecuencias fenotípicas de la PGM <sub>1</sub> de ocho departamentos excluyendo a Guatemala	25

## I. INTRODUCCION

La fosfoglucomutasa (PGM) es la enzima responsable de la conversión reversible de la glucosa-1-fosfato a glucosa-6-fosfato durante la primera fase de la glucólisis. Por encontrarse presente en la mayoría de tejidos y fluidos humanos, y presentar diferentes variaciones (fenotipos) ha sido incluida como parte de los sistemas de marcadores genéticos en las poblaciones.

La importancia de los marcadores radica en que representan la expresión bioquímica de la información contenida en los genes. Los marcadores genéticos permiten identificar fenotipos propios de cada isoenzima en los individuos y visualizar la variación genética en una población.

Los resultados derivados del estudio de isoenzimas como marcadores genéticos pueden utilizarse en las ciencias forenses para identificar la procedencia de evidencias como las manchas de sangre en el lugar de un crimen. Un conjunto de marcadores genéticos individualiza una muestra de sangre permitiendo la exclusión de personas sospechosas.

No se han caracterizado aún todos los marcadores genéticos de la población de Guatemala. El propósito de este trabajo de tesis es: estudiar en una forma preliminar la expresión fenotípica de la enzima fosfoglucomutasa (PGM), para tratar de determinar electroforéticamente su variación y distribución en nueve departamentos de Guatemala. Los resultados de este estudio, unidos a los de otras seis enzimas (fosfatasa ácida del eritrocito, glyoxalasa, esterasa D, adenilato kinasa, fosfoglucomutasa convencional y deaminasa adenosínica) permitirán definir los principales marcadores genéticos para la población de Guatemala.

## II. OBJETIVOS

- A. Determinar la expresión fenotípica de la isoenzima PGM en nueve departamentos de Guatemala, utilizando la técnica de electroforesis de agarosa.
- B. Analizar la distribución de los diferentes fenotipos de la PGM entre las poblaciones de Guatemala.
- C. Contribuir con los resultados obtenidos para elaborar el informe final donde se determinen los marcadores genéticos de la población de Guatemala; y así poder desarrollar posteriormente estudios sobre éste y otros marcadores genéticos.

### III. REVISION DE LITERATURA

Un marcador genético se define como la expresión bioquímica de la información contenida en los genes. Para utilizar un marcador genético en el estudio de poblaciones, este debe: 1) ser suficientemente polimórfico para dar un máximo de información; 2) tener un patrón de transmisión bien establecido y 3) permitir su análisis mediante técnicas simples, reproducibles y de bajo costo (Gaensslen, et. al., 1984).

El uso de marcadores genéticos en serología forense permite establecer la identidad de muestras que estén siendo tipificadas y comparadas (Gaensslen, et. al., 1984).

#### Fosfoglucomutasa como marcador genético:

En 1936, Carl & Gerti Cori (citados en U. S. Dept. of Justice, 1983) reconocieron un nuevo éster de glucosa fosfato en preparaciones de músculo de rana incubado con monofosfato de adenosina y fosfato. Este nuevo éster se comprobó era glucosa-1-fosfato. Se hizo entonces claro que el tejido de músculo y el extracto de levadura contenían una actividad enzimática responsable de la conversión de glucosa-1-fosfato a glucosa-6-fosfato. La enzima fue llamada fosfoglucomutasa (PGM; E CF 2.7.5.1;  $\alpha$ -D-glucosa-1,6-difosfato:  $\alpha$ -D-glucosa-1-fosfato fosfotransferasa). La enzima requiere de glucosa-1-6-difosfato y  $Mg^{++}$  para su actividad. Se inhibe por metales pesados como  $Zn^{++}$  y agentes quelantes la pueden inhibir en la ausencia de un exceso de  $Mg^{++}$  (U. S. Dept. of Justice, 1983).

El polimorfismo de la PGM empezó a ser investigado en 1964 por Spencer et. al. quienes encontraron que la PGM del eritrocito de diferentes personas daba tres patrones diferentes de isoenzimas luego de someterse a electroforesis en gel de almidón y tinción histológica específica (U. S. Dept. of Justice, 1983). Los mismos patrones se encontraron también en leucocitos, hígado, riñón, músculo uterino o

cardíaco, cerebro, piel y extractos placentarios.

Dentro de estos patrones se observaron siete bandas de actividad que fueron designadas como banda "a" a la "g"; siendo la banda "a" la más catódica (ver Fig. 1). Sólomente las bandas de "a" a "d" mostraron diferencias respecto de las otras bandas, y la explicación se basó en la presencia de dos alelos  $PGM^1$  y  $PGM^2$  (U. S. Dept. of Justice, 1983).

En 1965, Hopkinson & Harris (citados en U. S. Dept. of Justice, 1983) encontraron una familia Atkinson en donde había variación en las bandas "e", "f", y "g" de la PGM. Estas bandas estaban bajo el control de un segundo locus de PGM. Se designó un sub índice para el locus y super índice para los alelos. Así el locus PGM responsable de las bandas "a" a la "d" es el  $PGM_1$  con dos alelos comunes  $PGM_1^1$  y  $PGM_1^2$  que dan lugar a los tres fenotipos comunes. De la banda "e" a la banda "g" son controladas por el locus  $PGM_2$  (ver Fig. 1) (U. S. Dept. of Justice, 1983).

Hasta hace poco las isoenzimas de PGM eran separadas por electroforesis de almidón, membranas de acetato de celulosa o agarosa y, ocasionalmente en geles de poliacrilamida (U. S. Dept. of Justice, 1983). Sin embargo, en 1976, Bark et. al. (citados en U. S. Dept. of Justice, 1983) examinaron lisados de eritrocitos para PGM por enfoque isoeléctrico en gel de poliacrilamida sobre un rango de pH de 5-7 y observaron diez patrones diferentes con muestras de  $PGM_1$  (Fig. 2). Las cuatro bandas de actividad se identificaron con las expresiones alélicas 1 +; 1-; 2 +; 2-. La presencia de diez fenotipos pudo explicarse con base en la expresión de dos alelos,  $PGM_1^1$  y  $PGM_1^2$  (U. S. Dept. of Justice, 1983). La combinación de alelos para los diez fenotipos son: 1-; 1+1-; 1+; 2+1-; 2+1+; 2-1-; 2-1+; 2-; 2+2-; 2+.

Los patrones fenotípicos fueron confirmados por Bark et. al. en 1976. Estudios de pedigree en 24 familias con 52 niños no mostraron excepciones al patrón de

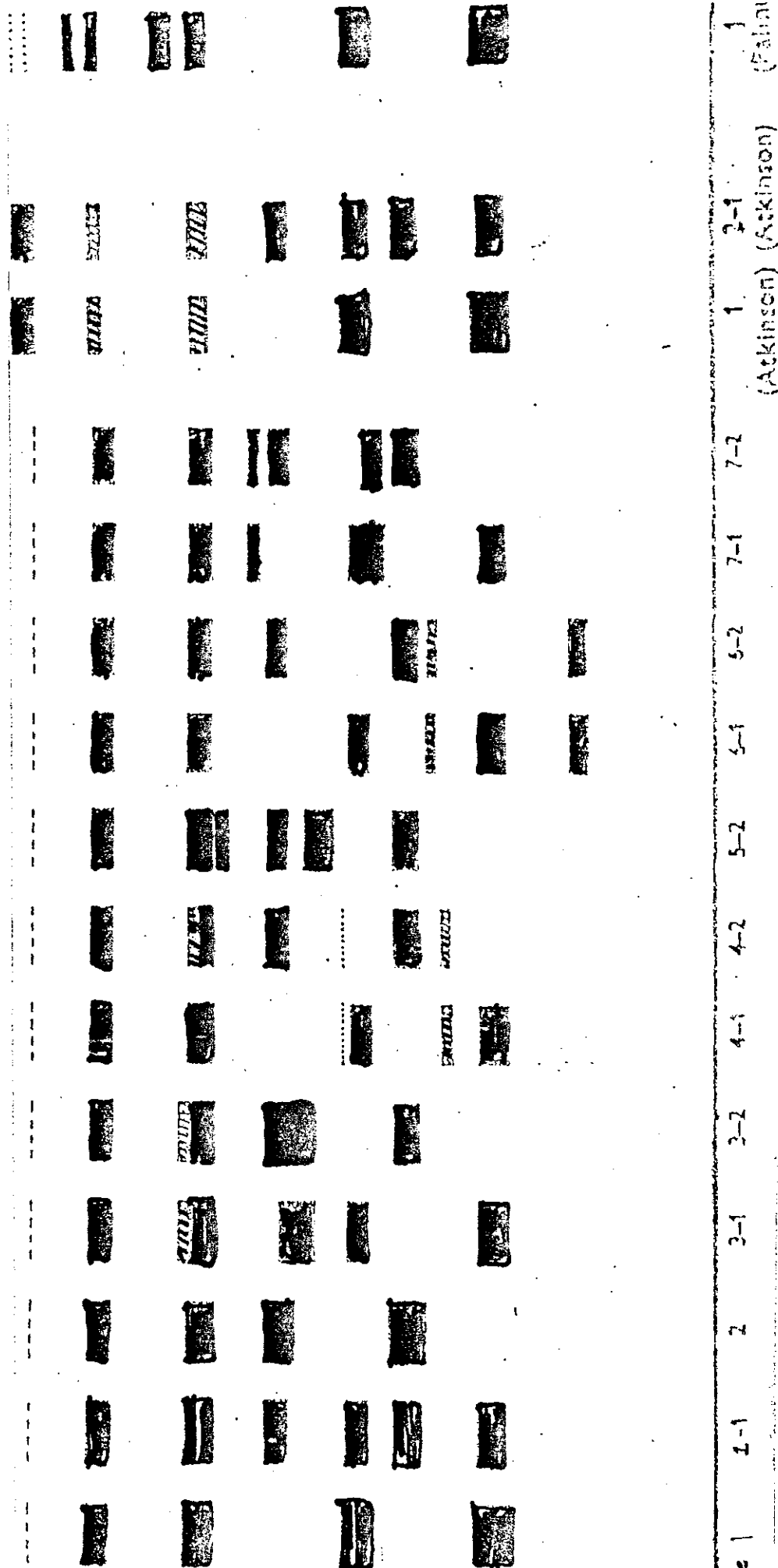


Figura 1. Esquema de las bandas "a" a la "g" del locus 1 en PGM<sub>1</sub> separadas por electroforesis\*

\* Proporcionado por International Criminal Investigation Training Assistance Program (ICITAP)



herencia, suponiendo cuatro expresiones en PGM<sub>1</sub> (U. S. Dept. of Justice, 1983).

Posteriormente, la detección de los cuatro alelos pudo aplicarse a manchas de sangre; lográndose visualizar diez fenotipos con el uso de enfoque isoelectrico en vez de tres, que eran los detectados en otros medios de soporte. De esta forma el índice de discriminación para PGM<sub>1</sub> se acrecentó. La aplicación de los procedimientos capaces de detectar los diez fenotipos se conoció como PGM sub-tipo (U. S. Dept., 1983).

Para analizar la frecuencia genética de estos alelos puede utilizarse la ley de Hardy-Weinberg para poblaciones en equilibrio. Según la ley de Hardy-Weinberg, la proporción de diferentes alelos, y por lo tanto los genotipos, permanecerán constantes, generación tras generación, en una población que se reproduce sexualmente (Curtis, 1975). Esta población debe cumplir las siguientes características: a) muy grande; b) los individuos se cruzan al azar; c) no hay selección natural; d) no hay mutaciones; e) no hay migraciones hacia dentro o hacia fuera de la población y f) no hay diferencias de sexo en la proporción de los alelos (U. S. Dept. of Justice, 1983). En la realidad, las poblaciones del mundo nunca llenan los requisitos de la población ideal, sin embargo un número de poblaciones se comporta como si estuvieran en un equilibrio de Hardy-Weinberg para un gran número de características heredadas, incluyendo a los marcadores genéticos sanguíneos (U. S. Dept. of Justice, 1984).

#### IV. MATERIALES Y METODOS

##### A. Obtención de la muestra:

Se obtuvieron muestras sanguíneas de hombres y mujeres en los hospitales de las siguientes cabeceras departamentales: ciudad de Guatemala, 82; Zacapa, 44; Chiquimula, 44; Puerto Barrios, 44; Cobán, 44; Totonicapán, 36; Mazatenango, 31; Escuintla, 37 y Huehuetenango, 38.

La sangre fue vertida en cuadrados de tela de lino de 5 x 5 cm<sup>2</sup> que fueron identificados y almacenados en sobres de papel a -4°C. hasta su utilización (Figura 3).

##### B. Preparación de la muestra:

Se tomaron 3-4 hilos con una longitud de 1 cm de la muestra impregnada en la tela y se les agregó 10 a 15  $\mu$ l de reactivo de Cleeland's (0.0077mg de dithiothreitol DTT, diluidos en 1 ml de agua). Se colocaron los hilos sobre porta objetos manteniéndolos luego en una cámara húmeda. Los controles fueron elaborados con muestra comercial ya preparada de sangre liofilizada que contenía los cuatro sub-tipos de isoenzima PGM. Se impregnaron dos hilos por control con esa sangre y se procedió igual que para las muestras.

##### C. Preparación de soluciones stock:

Se prepararon soluciones de buffer fosfatado pH 5.5 para el lado catódico y una dilución 1:5 de ese mismo buffer para el lado anódico de las cámaras de electroforesis, así como un buffer fosfatado pH 5.5 para el medio de soporte y un buffer de cloruro de Mg.6H<sub>2</sub>O pH 8.0 para la reacción (Apéndice A).

##### D. Electroforesis:

Se utilizaron los principios de enfoque isoeléctrico en cámaras horizontales, similares a los empleados por el Departamento de Policía del Condado de Los Angeles, Estados Unidos (U. S. Dept. of Justice, 1983). Las muestras fueron colocadas en

**Laboratorio Criminalístico Policía Nacional**  
Gabinete de Identificación No. Registro \_\_\_\_\_  
Procedencia \_\_\_\_\_  
Donante \_\_\_\_\_ Sexo F \_\_\_\_\_ M \_\_\_\_\_  
Fecha toma muestra \_\_\_\_\_  
Fecha elaboración tarjeta \_\_\_\_\_  
Fecha de Congelamiento \_\_\_\_\_  
Elaborado por \_\_\_\_\_  
Observaciones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Laboratorio Criminalístico Policía Nacional**  
Gabinete de Identificación No. Registro \_\_\_\_\_  
Procedencia \_\_\_\_\_  
Donante \_\_\_\_\_ Sexo F \_\_\_\_\_ M \_\_\_\_\_  
Fecha toma de muestra \_\_\_\_\_  
Fecha elaboración tarjeta \_\_\_\_\_  
Fecha de Congelamiento \_\_\_\_\_  
Elaborado por \_\_\_\_\_  
Observaciones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Figura 3. Modelo de identificación de las muestras**

platos de vidrio de 20 x 20 cm, que contenían isogel de electroendosmosis cero; en los que se perforaron trece pocitos de 1 cm de largo a 6 cm del borde del gel. En los pocitos 4 y 9 del plato se colocaron los controles, y en el resto de pocitos las muestras. Los platos fueron identificados con nombre, fecha y número correspondiente de muestra. El gel se corrió anódicamente colocando el origen cerca del cátodo a 400 voltios por cuatro horas.

#### E. Revelado de las muestras:

##### 1. Mezcla de Reacción:

Se pesaron 0.0525 g de glucosa-1-fosfato y glucosa 1,6-difosfato al 1%; 0.012 g de fosfato dinucleótido de adenin nicotinamida (NADP); 0.00357 g de tetrazolium (MTT) y se disolvieron en 15 ml de buffer de reacción, luego se colocaron en beaker de 15 ml. Se les agregó 45  $\mu$ l de glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (G6PD) y 600  $\mu$ l de azul meldola. Esta mezcla se vertió en 15 g de agar al 2% previamente fundido y mantenido a 60°C. Se puso la mezcla en el plato con las muestras y se colocaron en horno a 37°C a esperar el apareamiento de bandas durante 1-2 horas.

#### F. Mecanismo de reacción de la PGM durante el revelado de las muestras:

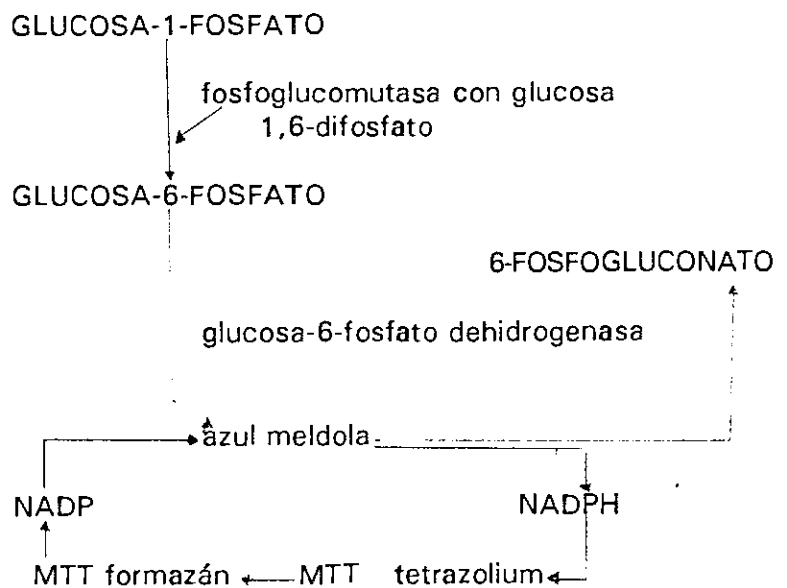
La PGM en el lisado cataliza la reacción glucosa-1-fosfato a glucosa-6-fosfato en la presencia de pequeñas cantidades de glucosa-1,6-difosfato. Este es el ingrediente crítico, sin el cual, las bandas que identifican los fenotipos aparecen muy despacio y muy tenues (U. S. Dept. of Justice, 1983). La glucosa-6-fosfato se usa como sustrato para la glucosa-6-fosfato dehidrogenasa. Esta enzima requiere fosfato dinucleótido adenin nicotinamida (NADP) como co-enzima, la cual a su vez es reducida a fosfato dinucleótido adenin nicotinamida hidrogenada (NADPH), utilizando azul de meldola como agente de transferencia. El tetrazolium (MTT) es reducido a un formazán teñido de azul, y el NADPH se oxida de nuevo a NADP (Figura 4).

Después de la reacción, las bandas de actividad que caracterizan a la PGM sub-tipo se ven como bandas azules sobre un fondo amarillo (U. S. Dept., 1983).

**G. Lectura de resultados:**

Se identificaron bandas claras bien definidas que se encontraron a la altura de las bandas control. Las bandas de PGM secundarias que aparecieron sobre el gel hacia el 2+ y el ánodo no se utilizaron para el diagnóstico del locus 1 (Figura 2).

**FIGURA 4. MECANISMO DE REACCION DE LA PGM DURANTE EL REVELADO DE LAS MUESTRAS**



(U. S. Dept of Justice, 1983)

## H. Análisis estadístico de los resultados:

### 1. Comparación de las frecuencias fenotípicas observadas con las esperadas según ley de Hardy-Weinberg

Los resultados de la PGM se analizaron para ver si las frecuencias observadas estaban relativamente cercanas a las que se esperaban con base en el equilibrio Hardy-Weinberg. Las frecuencias genéticas se calcularon con los resultados fenotípicos observados y luego fueron usados para generar los valores esperados para las clases fenotípicas.

Para obtener las frecuencias genéticas de cada alelo se recurrió a la siguiente fórmula:

$$\text{Frecuencia Genética} = \frac{\text{No. total de veces que el alelo ocurrió}}{\text{No. total de veces que el alelo pudo ocurrir}}$$

Si tenemos dos alelos con frecuencias  $p$  y  $q$ , las frecuencias fenotípicas correspondientes a cada clase en una población ocurrirán en la proporción  $p^2$ ;  $2pq$ ;  $q^2$  y  $p^2 + 2pq + q^2 = 1.0$ . Donde  $p^2$  es el cuadrado de la frecuencia genética calculada de uno de los alelos;  $2pq$  dos veces el producto de las frecuencias genéticas de los dos alelos, y  $q^2$  el cuadrado de la frecuencia genética del otro alelo. Para el caso de PGM sub-tipo con cuatro alelos tenemos que  $p^2 + q^2 + r^2 + s^2 + 2pq + 2pr + 2ps + 2qr + 2qs + 2rs = 1$ .

Donde:  $\text{PGM}^{1+} = p$ ;  $\text{PGM}^{1-} = q$ ;  $\text{PGM}^{2+} = r$  y  $\text{PGM}^{2-} = s$ .

Los fenotipos  $1+$ ,  $1-$ ,  $2+$  y  $2-$  son los genotipos homocigotos. Los fenotipos con dos alelos  $1+1-$ ,  $2+1-$ ,  $2+1+$ ,  $2-1-$ ,  $2-1+$ , y  $2+2-$  son los heterocigotos.

Las frecuencias fenotípicas esperadas y observadas fueron comparadas con la prueba estadística de chi-cuadrado ( $X^2$ ) (Gaensslen, 1984).

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Donde O = valores observados y E = valores esperados.

Se determinaron ocho grados de libertad para relacionar el valor de chi-cuadrado a la tabla de valores críticos para chi cuadrado. Y se elaboraron la hipótesis nula (Ho) y la hipótesis alterna (Ha) para relacionar los valores de significancia.

Ho: La población de los nueve departamentos de Guatemala se comporta según población en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Ha: La población de los nueve departamentos de Guatemala no se comporta según población en equilibrio de Hardy-Weinberg.

## 2. Análisis de la distribución de las frecuencias fenotípicas por departamentos

Para conocer el nivel de significancia de los diez fenotipos entre los nueve departamentos de Guatemala, se elaboró una tabla de contingencia de 10 x 9. Correspondiendo las filas a los diez fenotipos, y las columnas a los nueve departamentos. La fórmula general para obtener las frecuencias esperadas en una tabla de contingencia es:

$$f^{ij} = \frac{(F_i)(C_j)}{n}$$

(Zar, 1984)

Donde:  $F_i$  = total de las frecuencias de la fila

$C_j$  = total de las frecuencias de la columna

$N$  = total de todas las frecuencias en la muestra

Los grados de libertad se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{grados de libertad} = (\text{No. de filas} - 1) (\text{No. de columnas} - 1)$$

Las frecuencias fenotípicas esperadas y observadas fueron comparadas con chi-

cuadrado, y se elaboraron las siguientes hipótesis:

Ho: La distribución de los diez fenotipos es igual en los nueve departamentos de Guatemala.

Ha: La distribución de los diez fenotipos no es la misma para los nueve departamentos de Guatemala.

### 3. Comparación de la frecuencia de cada fenotipo entre la muestra de Guatemala vs. grupo hispano del Condado de Los Angeles

Para comparar las frecuencias fenotípicas entre las muestras de los nueve departamentos de Guatemala y la del grupo hispano de los Angeles, Estados Unidos, se elaboraron tablas de contingencia de 2 x 2 (Zar, 1984) para cada uno de los diez fenotipos y se utilizó el siguiente modelo:

Para el fenotipo 1 + 1-:

	Casos positivos	Casos negativos	
Guatemala	123 a	265 b	388 a + b
Poblacion hispana	103 c	301 d	404 c + d
	<u>226 a + c</u>	<u>566 b + d</u>	<u>792 n</u>

Casos positivos = frecuencia con que el fenotipo se presentó

Casos negativos = número total de la muestra ó N - casos positivos

$$\chi^2 = \frac{n \{ |ad-bc| - \frac{1}{2} n \}^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

Para tablas de contingencia de 2 x 2 se determinó un grado de libertad (Zar, 1984) y se elaboraron las mismas hipótesis para cada uno de los fenotipos.

Ho: La frecuencia de presentación del fenotipo (1-, 1 + 1-, 1 +, 2 + 1 +, 2 + 1-, 2-1 +, 2-1-, 2-, 2 + 2-, 2 +) en las muestras de los nueve departamentos de Guatemala es igual a la frecuencia de ese fenotipo en la muestra del grupo hispano del condado de los Angeles, Estados Unidos.

Ha: La frecuencia de presentación del fenotipo (1-, 1 + 1-, 1 +, 2 + 1 +, 2 + 1-,

2-1 +, 2-1-, 2-, 2 + 2-, 2 +) en la muestra de los nueve departamentos de Guatemala no es igual a la frecuencia de ese fenotipo en la muestra del grupo hispano del condado de Los Angeles, Estados Unidos.

#### **4. Análisis discriminante y de "cluster"**

Se utilizaron los análisis de "quick cluster" y análisis discriminante del paquete estadístico BMDP. Con el análisis discriminante se quería conocer si existía una relación entre la frecuencia fenotípica y el origen geográfico de las muestras. El análisis de "cluster" daría información sobre otra posible manera de agrupación en caso de no existir una asociación de las frecuencias fenotípicas con el origen geográfico.

## V. RESULTADOS

Los fenotipos de los nueve departamentos de Guatemala pueden dividirse en tres categorías según su frecuencia (ver Fig. 5). Los fenotipos 1-, 1 + 1- y 1+ son los más predominantes con frecuencias de 14.9% a 22.16%; seguidos por los fenotipos 2+1-, 2+1+, 2-1- y 2-1+ con frecuencias intermedias de 4.64% a 9.53%; y los fenotipos 2-, 2+2- y 2+ con las frecuencias más bajas de 1.03% a 1.8%.

Al analizar las frecuencias de los fenotipos por departamento en la muestra de Guatemala, Zacapa es el único que presenta a seis individuos relacionados con los fenotipos de baja prevalencia (2-, 2+2-, 2-). Los ocho departamentos restantes presentan de cero a tres individuos para estos mismos fenotipos (Cuadro 1).

Al relacionar la distribución de ladinos e indígenas (Cuadro 2) con la distribución de los fenotipos de PGM<sub>1</sub> (Cuadro 1) por departamento, pareciera existir una asociación entre grupo étnico predominante y la ocurrencia de ciertos fenotipos. Así se nota que en los departamentos del grupo 2 (Cuadro 1) donde predomina la población indígena hay mayor prevalencia del fenotipo 1 + 1-, mientras que en los departamentos de los grupos 1, 3 y 4, donde la población indígena es una minoría son otros fenotipos los predominantes (ver cuadro 1). Sin embargo, estadísticamente, la distribución de los diez fenotipos es la misma para los nueve departamentos de Guatemala ( $X^2 = 79.15$ ; g.l. = 72;  $p < 0.25$ ). Por lo tanto no existe una asociación entre fenotipo y región geográfica.

Se esperaba que para un marcador genético como la PGM sub-tipo, la muestra de la población sí cumpliera con la ley de Hardy-Weinberg. De acuerdo al los resultados (Cuadro 3) sí se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las frecuencias genéticas esperadas, según el equilibrio de Hardy-Weinberg, y las observadas en la muestra ( $X^2 = 22.07$ ; g.l. = 8;  $0.005 < p < 0.010$ ). Por lo tanto

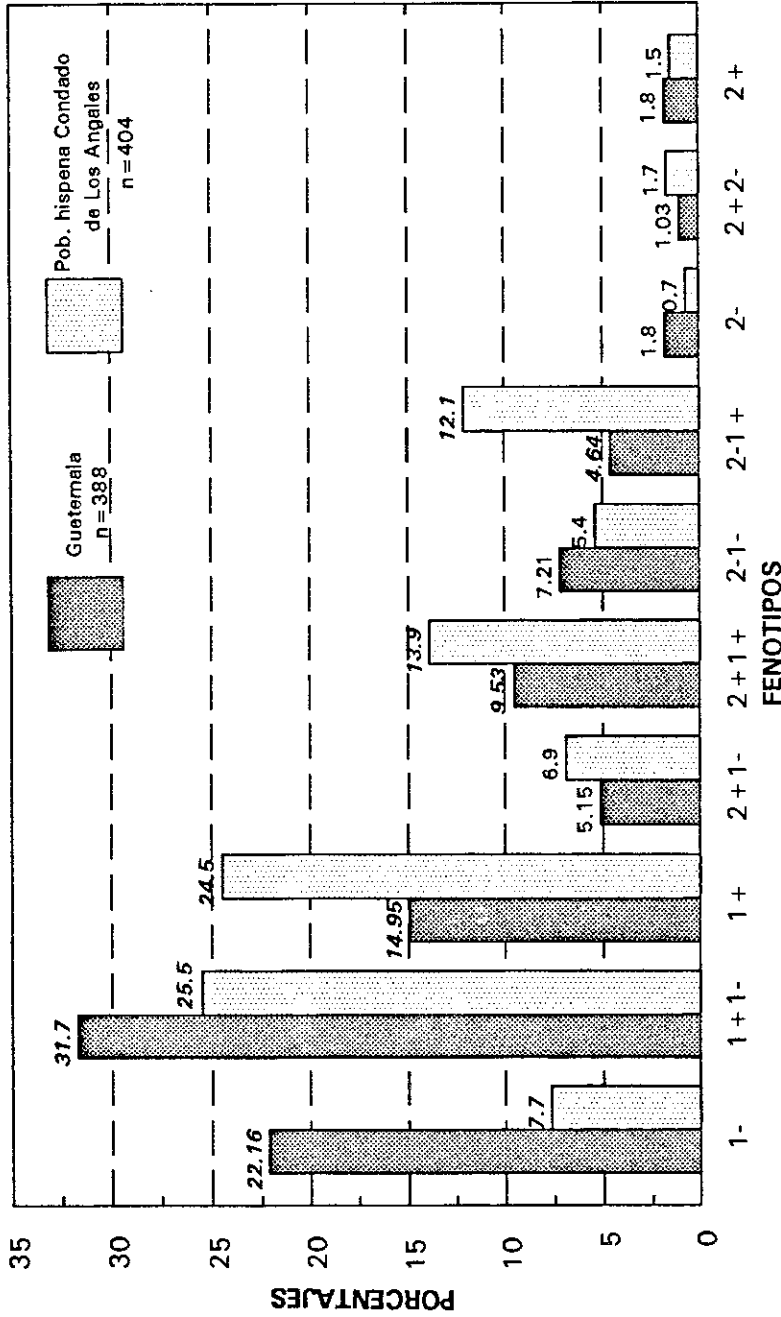


Figura 5. Frecuencias fenotípicas de la PGM 1 en muestras de sangre de nueve departamentos de Guatemala y de la población hispana del Condado de Los Angeles, Estados Unidos\*.

\*\* Los números en itálicas muestran diferencias estadísticamente significativas entre muestra de Guatemala y grupo hispano de Los Angeles, P < 0.05

\* Resultados proporcionados por el Departamento de Policía del Condado de Los Angeles, Estados Unidos.

**Cuadro 1. Presentación fenotípica de la PGM, en muestras de sangre de nueve departamentos de Guatemala analizada por electroforesis de agarosa de electroendosmosis cero**

GRUPO*	DEPARTAMENTO	FENOTIPOS <sup>b,c</sup>									
		1-	1+1-	1+	2+1-	2+1+	2-1-	2-1+	2-	2+2-	2+
1	Zacape	<u>6</u>	4	<u>7</u>	3	<u>11</u>	0	0	1	1	4
	Puerto Barrios	<u>10</u>	<u>9</u>	<u>5</u>	2	3	5	4	1	2	0
	Chiquimula	<u>7</u>	<u>13</u>	<u>10</u>	2	4	5	2	1	0	0
2	Totonicapán	<u>8</u>	<u>16</u>	<u>4</u>	3	1	2	0	0	0	2
	Cobán	<u>13</u>	<u>19</u>	<u>3</u>	3	2	0	0	1	1	1
	Huehuetenango	<u>10</u>	<u>14</u>	<u>5</u>	0	1	4	2	1	0	0
3	Escuintla	<u>7</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	1	3	2	2	1	0	0
	Mazatenango	<u>10</u>	<u>12</u>	<u>3</u>	1	1	3	1	0	0	0
4	Guatemala	<u>15</u>	<u>27</u>	9	5	<u>11</u>	7	7	1	0	0
TOTAL		86	123	58	20	37	28	18	7	4	7

\*Agrupación basada en región geográfica

<sup>b</sup>En cada departamento se subrayaron las tres frecuencias más altas

<sup>c</sup>No existe diferencia significativa en la distribución de los diez fenotipos, entre los nueve departamentos ( $\chi^2 = 78.15$ , g.l. = 72  $p < 0.25$ )

**Cuadro 2. Porcentaje de habitantes indígenas y ladinos por departamento estudiado, según censo poblacional de 1981**

GRUPO*	DEPARTAMENTO	% POBLACION INDIGENA	% POBLACION LADINA
1	Zacapa	2.61	97.27
	Puerto Barrios	6.5	93.30
	Chiquimula	35.48	63.28
2	Totonicapán	97.14	2.83
	Cobán	80.55	19.28
	Huehuetenango	65.92	34.04
3	Escuintla	8.80	91.02
	Mazatenango	26.09	73.81
4	Guatemala	12.19	67.62

\*Agrupación basada en región geográfica

Fuente: Instituto Nacional de Estadística

Cuadro 3. Frecuencias genéticas calculadas con base en frecuencias fenotípicas de la PGM<sup>1</sup> en muestras de sangre de nueve departamentos de Guatemala

FENOTIPO	FRECUENCIA FENOTIPICA OBSERVADA*	FRECUENCIA GENETICA ESPERADA*	FRECUENCIA FENOTIPICA ESPERADA*
1-	86	.185	75.66
1+1-	123	.336	130.37
1+	58	.144	55.87
2+1-	20	.086	33.87
2+1+	37	.074	28.71
2-1-	28	.072	27.84
2-1+	18	.062	24.06
2-	7	.007	2.72
2+2-	4	.016	6.21
2+	7	.008	3.48
TOTAL (N)	388	1.001	

\* $\chi^2 = 22.07$ , g.l. = 8,  $0.005 < p < 0.010$  al comparar la distribución de frecuencias fenotípicas observadas vs. esperadas según equilibrio Hardy-Weinberg

\*Frecuencia genética esperada según ley de Hardy-Weinberg (Ver apéndice C). Frecuencia genética =  $\frac{\text{No. total de veces que el alelo ocurrió}}{\text{No. total de veces que el alelo pudo ocurrir}}$

\*Frecuencia fenotípica esperada = (N) (frecuencia genética esperada)

la población de los nueve departamentos de Guatemala no se comporta según una población en equilibrio de Hardy-Weinberg.

La comparación de las frecuencias fenotípicas entre las muestras de los nueve departamentos de Guatemala y la del grupo hispano del Condado de Los Angeles, Estados Unidos, permitió conocer que las frecuencias de presentación de los fenotipos 1-, 1+1-, 1+, 2+1+ y 2-1+ de los nueve departamentos de Guatemala varían significativamente (1-:  $X^2 = 31.85$ ,  $p < 0.001$ ; 1+1-:  $X^2 = 69.3$ ,  $p < 0.001$ ; 1+:  $X^2 = 11.5$ ,  $p < 0.001$ ; 2+1+:  $X^2 = 4$ ,  $p < 0.05$ ; 2-1+:  $X^2 = 15.37$ ,  $p < 0.001$ ) de las frecuencias de presentación de esos mismos fenotipos en el grupo hispano del Condado de Los Angeles, Estados Unidos. Y que las frecuencias de presentación de los fenotipos 2+1-, 2-1-, 2-, 2+2- y 2+ no varían significativamente (2+1-:  $X^2 = 0.12$ ,  $p < 0.75$ ; 2-1-:  $X^2 = 0.77$ ,  $p < 0.50$ ; 2-:  $X^2 = 1.04$ ,  $p < 0.25$ ; 2+2-:  $X^2 = 1.32$ ,  $p < 0.25$ ; 2+:  $X^2 = 0.005$ ,  $p < 0.95$ ) (ver figura 5).

En el análisis discriminante de las frecuencias fenotípicas de los nueve departamentos de Guatemala; tomando las frecuencias de los alelos 1+, 1-, 2- y 2+ como las variables independientes, y buscando una relación entre la frecuencia de los diez fenotipos y el origen geográfico de la muestra (departamentos), los resultados mostraron un 18.96% de casos correctamente clasificados, contra 81.96% de casos mal clasificados. El mismo análisis mostró 22.88% de casos correctamente clasificados, contra 77.12% de casos mal clasificados, al excluir del análisis al departamento de Guatemala.

Los porcentajes de casos correctamente clasificados fueron muy bajos si se comparan con el 100%, que sería el valor más alto asignado a este tipo de análisis. Sin embargo se observó una tendencia a que el número de casos correspondientes a las frecuencias fenotípicas, quedaran mejor clasificadas al ingresar los resultados ya

agrupados por regiones geográficas determinadas por predominancia de grupos étnicos. En este caso el número de casos correctamente clasificados subió a 37.11% con los nueve departamentos y a 47.71% al excluir al departamento de Guatemala.

Los resultados del análisis con diez "cluster" (Cuadro 4) muestran a las frecuencias mayores en los "cluster" 9, 1 y 8 respectivamente, correspondientes a los fenotipos 1+1-, 1-, y 1+. Las frecuencias intermedias en los "cluster" 6, 5, 7 y 4 respectivamente, correspondientes a los fenotipos 2+1-, 2-1-, 2+1-, 2-1+. Y las frecuencias menores en los "cluster" 2, 10 y 3 respectivamente, correspondientes a los fenotipos 2-, 2+2-, 2+.

El análisis con tres "cluster" agrupó a la mayoría de casos de la categoría de frecuencias mayores (fenotipos 1+, 1+1-, 1-) dentro del "cluster" 1, como a algunos casos de la categoría de frecuencias intermedias (fenotipos 2+1-, 2+1+, 2-1+, 2-1-). El "cluster 2" agrupó a la mayoría de casos de la categoría de frecuencias intermedias, como a algunos casos de la categoría de frecuencias mayores. El "cluster" 3 agrupó sólo a los casos de la categoría de las frecuencias bajas (fenotipos 2+, 2+2-, 2-) (Cuadro 5). Además, los centros finales del "cluster" (Cuadro 5.A.) sugieren que estadísticamente hay dominancia de alelos en los grupos independientemente de la región geográfica. El "cluster" 1 tiene predominancia del alelo 1-; el "cluster" 2, que presenta a los cuatro alelos, tiene predominancia del alelo 1+; y el "cluster 3 tiene presencia sólo de alelos 2+ y 2- y no hay predominancia.

Estos resultados apoyan la tendencia observada en el cuadro 1, en cuanto a la división de los diez fenotipos en tres categorías, según la frecuencia con que se presentan.

**Cuadro 4. Análisis estadístico con diez "cluster" de las frecuencias fenotípicas de la PGM1 de nueve departamentos de Guatemala\***

Grupo <sup>b</sup>	Departamento	CLUSTER <sup>c</sup>										Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	Zacapa	6	1	1	0	0	11	3	7	4	4	37
		16.2%	2.7%	2.7%	0.0%	0.0%	29.7%	8.1%	16.9%	10.8%	10.8%	9.5%
		7.0%	25.0%	14.3%	0.0%	0.0%	29.7%	15.0%	12.1%	3.3%	57.1%	
	Puerto Barrios	10	2	1	4	5	3	2	5	9	0	41
		24.4%	4.9%	2.4%	9.8%	12.2%	7.3%	4.9%	12.2%	22.0%	0.0%	10.6%
		11.8%	50.0%	14.3%	22.2%	17.9%	8.1%	10.0%	8.6%	7.3%	0.0%	
	Chiquimula	7	0	1	2	5	4	2	10	13	0	44
		15.9%	0.0%	2.3%	4.5%	11.4%	9.1%	4.5%	22.7%	29.5%	0.0%	11.3%
		8.1%	0.0%	14.3%	11.1%	17.9%	10.8%	10.0%	17.2%	10.8%	0.0%	
	Taticapán	8	0	0	0	2	1	3	4	16	2	36
		22.2%	0.0%	0.0%	0.0%	5.6%	2.8%	8.3%	11.1%	44.4%	5.6%	9.3%
		9.3%	0.0%	0.0%	0.0%	7.1%	2.7%	15.0%	6.8%	13.0%	26.6%	
2	Cobán	13	1	1	0	0	2	3	3	19	1	43
		30.2%	2.3%	2.3%	0.0%	0.0%	4.7%	7.0%	7.0%	44.2%	2.3%	11.1%
		15.1%	25.0%	14.3%	0.0%	0.0%	5.4%	15.0%	5.2%	15.4%	14.3%	
	Huehuetenango	10	0	1	2	4	1	0	5	14	0	37
		27.0%	0.0%	2.7%	5.4%	10.8%	2.7%	0.0%	13.5%	37.8%	0.0%	9.5%
		11.8%	0.0%	14.3%	11.1%	14.3%	2.7%	0.0%	8.8%	11.4%	0.0%	
3	Escuintle	7	0	1	2	2	3	1	12	9	0	37
		18.9%	0.0%	2.7%	5.4%	5.4%	8.1%	2.7%	32.4%	24.3%	0.0%	9.5%
		8.1%	0.0%	14.3%	11.1%	7.1%	6.1%	5.0%	20.7%	7.3%	0.0%	
	Mazatenango	10	0	0	1	3	1	1	3	12	0	31
		32.3%	0.0%	0.0%	3.2%	9.7%	3.2%	3.2%	9.7%	38.7%	0.0%	8.0%
		11.6%	0.0%	0.0%	5.6%	10.7%	2.7%	5.0%	5.2%	9.8%	0.0%	
4	Guatemala	15	0	1	7	7	11	5	9	27	0	62
		18.3%	0.0%	1.2%	8.5%	8.5%	13.4%	6.1%	11.0%	32.9%	0.0%	21.1%
		17.4%	0.0%	14.3%	36.9%	25.0%	29.7%	25.0%	15.5%	22.0%	0.0%	
	Total	66	4	7	18	26	37	20	58	123	7	388
		22.2%	1.0%	1.8%	4.6%	7.2%	9.5%	5.2%	14.9%	31.7%	1.8%	

\*Se utilizó el paquete estadístico BMDP

<sup>b</sup>Agrupación basada en región geográfica

<sup>c</sup>"Cluster" 1, agrupó fenotipo 1-

"Cluster" 6, agrupó fenotipo 1+

"Cluster" 9, agrupó fenotipo 1+1-

**Cuadro 5. Análisis estadístico con tres "cluster" de las frecuencias fenotípicas de la PGM1 de ocho departamentos excluyendo a Guatemala\***

Grupo <sup>b</sup>	Departamento	CLUSTER <sup>c</sup>			Total
		1	2	3	
1	Zacapa	13	18	6	37
		35.1%	48.8%	16.2%	12.1%
		6.4%	20.8%	35.3%	
	Puerto Barrios	26	12	3	41
		63.4%	29.3%	7.3%	13.4%
		12.0%	14.0%	17.6%	
	Chiquimula	27	16	1	44
		61.4%	36.4%	2.3%	14.4%
		13.3%	18.5%	5.8%	
Totonicapán	28	6	2	36	
	80.6%	13.8%	5.6%	11.8%	
	14.3%	5.6%	11.6%		
2	Cobán	36	6	3	43
		81.4%	11.6%	7.0%	14.1%
		17.2%	5.8%	17.8%	
	Huehuetenango	28	6	1	37
		75.7%	21.6%	2.7%	12.1%
		13.8%	9.3%	5.9%	
3	Escuintla	18	17	1	37
		51.4%	45.8%	2.7%	12.1%
		9.4%	19.8%	5.9%	
	Mazatenango	26	6	0	31
		83.8%	16.1%	0.0%	10.1%
		12.8%	5.8%	0.0%	
	Total	203	66	17	306
		66.3%	28.1%	5.6%	

\*Se utilizó el paquete estadístico BMOP

<sup>b</sup>Agrupación basada en región geográfica

<sup>c</sup>"Cluster" 1, mayoría de casos de los fenotipos 1+, 1+1-, 1-, y algunos casos de los fenotipos 2+1-, 2+1-, 2-1+, 2-1-

"Cluster" 2, mayoría de casos de los fenotipos 2+1+, 2+1-, 2-1+, 2-1- y algunos casos de los fenotipos 1+, 1+1-, 1-

"Cluster" 3, fenotipos 2-, 2+2-, 2+

**Cuadro 5.A. Centros finales del análisis estadístico con tres "cluster" de las frecuencias fenotípicas de la PGM, de ocho departamentos excluyendo a Guatemala<sup>a</sup>**

CLUSTER	ALELOS			
	1+	1-	2+	2-
1	.4729	1.0000	.0739	.1034
2	1.0000	.0000	.3023	.1279
3	.0000	.0000	.6471	.5882

<sup>a</sup> Se utilizó el paquete estadístico BMDP.

## VI. DISCUSION

Respecto a la PGM sub-tipo como marcador genético, se esperaba que la muestra de los nueve departamentos sí cumpliera con la ley de Hardy-Weinberg. Las posibles causas por las que no se cumplió pueden ser: a) una muestra que por su tamaño no es representativa de la población, y b) un muestreo incorrecto que toma como universo una mezcla de dos poblaciones diferentes (ladina-indígena).

Del análisis de la distribución de las frecuencias fenotípicas por departamentos se observa la existencia de un patrón de división de frecuencias en tres categorías: categoría uno (fenotipos 1-, 1 + 1-, 1 +), categoría dos (fenotipos 2 + 1-, 2 + 1 +, 2-1-, 2-1 +) y categoría tres (fenotipos 2-, 2 + 2-, 2 +), respectivamente asociadas con frecuencias altas, intermedias y bajas; por tanto en estudios posteriores sobre PGM en Guatemala se esperarían encontrar el mismo patrón. El fenotipo 1 + 1- parece estar asociado al grupo étnico indígena, por lo que se esperarían también encontrar una alta frecuencia de los alelos 1 + y 1- y su combinación en aquellas zonas geográficas donde la población indígena sea predominante.

Los resultados de la comparación entre la muestra de Guatemala vs. el grupo hispano de Los Angeles, Estados Unidos mostraron las siguientes similitudes: 1) la predominancia de la frecuencia del fenotipo 1 + 1-. 2) la misma frecuencia para los fenotipos 2 + 1-, 2-1-, 2 + 2- y 2 +. Estas características en la expresión fenotípica de la PGM sub-tipo, pudieran deberse a la existencia de genes de ancestros comunes a los latinoamericanos, como lo son la raza indígena y la española. Las diferencias significativas en los fenotipos 1 +, 1 + 1-, 1-, 2 + 1 + y 2-1 + entre las dos poblaciones, pudieran deberse a que en la población hispana de Estados Unidos existe más mezcla de individuos de diferentes orígenes étnicos; mientras que en Guatemala podrían

identificarse sólo dos grupos, el indígena y el ladino. Sin embargo, para poder discutir más sobre ese tema se haría necesario conocer específicamente las frecuencias fenotípicas de la PGM sub-tipo características de la población indígena y ladina de Guatemala.

Sobre el análisis discriminante, se observa que el aumento en el porcentaje de casos agrupados clasificados correctamente de 18.04% a 47.71%, que se logró después de agrupar a los departamentos por grupo étnico predominante (ladino-indígena), ayudó para hacer la recomendación de que los estudios posteriores sobre marcadores genéticos en Guatemala deben llevarse a cabo considerando a la población por grupos étnicos, incluyendo a la población de raza negra que se encuentra en el departamento de Izabal. En este estudio por el tipo de muestreo que se llevó a cabo, esa raza no fue incluida. Es importante notar que a pesar de que hay cierta asociación entre tipo de fenotipo y grupo étnico, no se pueden diferenciar étnias con base en un sólo marcador genético.

El análisis de cluster apoya la posibilidad que exista el patrón de división de las frecuencias fenotípicas en tres categorías asociadas a la frecuencia de aparición de los fenotipos, ya que estadísticamente la distribución de los diez fenotipos es la misma para los nueve departamentos, y no existe asociación entre fenotipo y región geográfica.

Con los resultados de este estudio preliminar no se puede concluir si los grupos étnicos se comportan como poblaciones biológicamente diferentes. Pero si se pudo cumplir con los objetivos del estudio al determinarse la expresión fenotípica de la isoenzima PGM sub-tipo y su distribución para los nueve departamentos de Guatemala (Cuadro 1).

Estos resultados constituyen un aporte al Laboratorio de Criminalística de la

Policía Nacional, al comprobar que la metodología utilizada en el desarrollo del estudio de determinación de la PGM como marcador genético para Guatemala, es adecuada y que se puede utilizar en estudios posteriores. Además, la técnica de electroforesis de agarosa de electroendosmosis cero probó ser útil para diferenciar individuos.

## VII. RECOMENDACIONES

Debido a que la designación de los grupos ladino (como equivalente a no indígena) e indígena no ha sido aún debidamente estudiada y delimitada (Dirección General de Estadística, 1950) hasta la fecha, se recomienda que el diseño experimental de los estudios posteriores sobre marcadores genéticos incluya las características principales que el investigador tomará en cuenta para distinguir al grupo ladino del indígena. Ya que la literatura, dentro del campo de la estadística, no evidencia un concepto único sobre las características que distinguen a estos grupos (Dirección General de Estadística, 1950).

Para que el estudio de las isoenzimas como marcadores genéticos de la población tenga validez, sea más completo y esté apoyado sobre bases genéticas, el muestreo debe hacerse con base en el diseño experimental que tome en cuenta a todos los grupos étnicos del país, utilizando un número representativo de individuos para la muestra.

Si la toma de muestras de sangre se hiciera difícil por razones culturales dentro de las étnias, se podría recurrir a otro tejido o fluido corporal, pero ello implicaría la implementación de otra técnica a utilizarse al especificarse el cambio en la muestra a analizar.

La técnica de electroforesis utilizando agarosa de electroendosmosis cero es muy recomendable para el estudio de la isoenzima PGM sub-tipo como marcador genético y para diferenciar individuos.

Esta técnica también es útil para estudios de pedigree en familias de diferentes etnias. Y puede usarse además en estudios de paternidad.

También se recomienda al personal del Laboratorio de Criminalística de la Policía

Nacional elaborar un plan de reglas de seguridad para manejar y deshechar materiales tóxicos dentro del laboratorio.

## VIII CONCLUSIONES

Para este trabajo y según los resultados obtenidos, se llegó a las siguientes conclusiones: El fenotipo 1 + 1- de la PGM sub-tipo es el que presentó la frecuencia total mayor de los nueve departamentos de Guatemala.

El fenotipo 2 + 2- de la PGM sub-tipo es el que presentó la frecuencia total menor de los nueve departamentos.

Estadísticamente, la distribución de los diez fenotipos es la misma en los nueve departamentos de Guatemala; por lo tanto no se comprobó una asociación entre la expresión del fenotipo y el origen geográfico de la muestra.

Los resultados sugieren que la ocurrencia del fenotipo 1 + 1- pudiera estar asociada al grupo étnico indígena, ya que predomina en los departamentos donde la población indígena es una mayoría.

## IX LITERATURA CITADA

- Allen, R. C. 1984. Isoelectric focussing. United States Dept. of Justice. Federal Bureau of Investigation. En Proceedings of the International Symposium on the Forensic Applications of Electrophoresis. FBI Academy, Quantico. Virginia. p. 91-95.
- Arnaud, P., y R. C. Allen. 1984. Why polymorphisms occur? United States Dept. of Justice. Federal Bureau of Investigation. En Proceedings of the International Symposium on the Forensic Applications of Electrophoresis. FBI Academy, Quantico, Virginia. p. 15-27.
- Barman, T. E. 1969. Enzyme handbook. Vol. I, Vol. II. Springer-Verlag. N. Y.
- Bashinski, J., y P. Kalish. 1980. Effectiveness of long term freezer storage of bloodstains. Presented to CAC seminar, Santa Barbara.
- Bergmeyer, H. O. 1974. Methods of Enzymatic Analysis. Vol. I. Academic Press Inc. London.
- Brown, B. L., y S. Baechtel. 1984. Application of immunologic methods to forensic science. Crime Laboratory Digest 11(5).
- Budowle, B. 1984. Principles of isoelectric focussing. United States Dept. of Justice. En Proceedings of the International Symposium on the Forensic Applications of Electrophoresis. FBI Academy, Quantico, Virginia. p. 121-126.
- Cavalli-Sforza, L. L. y W. F. Bodmer. 1971. The Genetics of Human Populations. W. H. Freeman & Co. San Francisco. p. 45-56.
- Colowick, S. P., y W. O. Kaplan. 1979. Methods in Enzymology. Vol. LVIII. Cell Culture. Academic Press Inc. N. Y.
- Colowick, S. P., y W. O. Kaplan, 1970. Methods in Enzymology. Vol. XIX. Proteolytic Enzymes. Academic Press. N. Y.
- Crown, J. F., y M. Kimura. 1970. An Introduction to Population Genetics Theory. Harper & Row. Pub. N. Y. p. 32-40 p. 433-436.
- Curtis, H. 1975. Biology. 2nd. ed. Worth Pub. Inc. N. Y. p. 867.
- Dirección General de Estadística. 1950. Sexto Censo de Población. Dirección General de Estadística. Guatemala
- Dixon, M., y E. C. Webb. 1979. Enzymes. Academic Press. N. Y.
- Eggèrer H., y R. Huber. 1981. Structural and Functional Aspects of Enzyme Catalyst.

Springer-Verlag. N. Y.

- Falconer, D. S. 1960. Introduction to Quantitative Genetics. The Ronald Press Co. N. Y. p. 9-22.
- Fawcett, J. S. 1984. Electrophoretic theory and practice: options in electrophoretic analysis. United States Dept. of Justice. En Proceedings of the International Symposium on the Forensic Applications of Electrophoresis. FBI Academy, Quantico, Virginia. p. 85-89
- Gaensslen, R. E., et. al. 1983. Background material in biochemistry genetics and immunology. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology and biochemistry. National Insitute of Justice. N. Y.
- Gaensslen, R. E., S. Echart., M. Abbot., y H. Hammond. 1984. Use and interpretation of phenotypic frecuencies for genetic markers in populations in forensic serology. United States Dept. of Justice Forensic Science Research and Training Center, FBI Academy, Quantico Virginia. p. 29-41.
- Hartl, D. L. 1980. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc. Pub. Sunderland, MA. p. 72-81 p.98-104.
- Horowitz, F. 1950. Chemistry and Biology of Proteins. Academic Press Inc. N. Y.
- Hunt, R. H. 1986. Chromosomal and isozymes electrophoretic identification. Journal of Medical Entomology. 23:655-660.
- Instituto Nacional de Estadística. 1981. Censos nacionales de 1981 IX censo de población. República: población total, población indígena, población en hogares, población en locales colectivos, población sin local de habitación. Tomo I. Cifras significativas. Instituto Nacional de Estadística. Guatemala. C. A.
- Lehninger, A. L. 1982. Principles of Biochemistry. Worth Pub. Int. N. Y.
- Marija J. Norusis/SPSS Inc. 1990. SPSS/PC + Advanced Statistics 40 for the IBM PC/XT/AT and PS/2. B-1-B30 pp.
- Marija, J. Norusis/SPSS INC. 1990. SPSS/PC + Statistics 4.0 for the IBM PC/XT/AT and PS/2. B. 175-B-184 pp.
- Merrill, C. R. 1984. Genetics, forensics and electrophoresis. United States Dept. of Justice. Forensic Science Research and Training Center, FBI Academy, Quantico, Virginia. p. 3-13.
- Spieß, E. B. 1977. Genes in Populations. John Wiley & Sons. N. Y. p. 66-70.
- Summer, J. B., K. Myrback. 1952. The Enzymes. Academic Press Inc. N. Y.

United States Dept. of Justice, Federal Bureau of Investigation. 1983. Sourcebook in forensic serology, immunology and chemistry. Forensic Science Research and Training Center, FBI Academy, Quantico, Virginia. p. 425-429.

United States Dept. of Justice, Federal Bureau of Investigation. 1984. En Proceedings of the International Symposium on the Forensic Applications of Electrophoresis. FBI Academy, Quantico, Virginia.

Walker, R. 1983. The Molecular Biology of Enzyme Synthesis. John Wiley & Sons. N. Y.

Wolson, T. L., M. Chin-See, D. Rhodes, et. al. 1990. Determination of PGM subtypes, EAP, and EsD phenotypes by isoelectric focusing on servalypt precotes (Serva biochemicals) Ultrathin polyacrylamide gels. Metro-Dade Police Dept. Crime Lab. Bureau, Miami, FL.

## APENDICE A

### Preparación de Soluciones Stock

#### A. Buffer de la Cámara:

##### 1. lado catódico:

82.4 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (fosfato dibásico de sodio) 42.0 g de ácido acético monohidro

Disolver en 1500 ml de agua destilada, y llevar a 2000 ml, ajustar pH a 5.5 con HCl 1 N o NaOH 1 N.

##### 2. lado anódico:

dilución 1:5 de buffer catódico. 400 ml de buffer catódico diluido a 2000 ml de agua destilada.

#### B. Buffer del Gel:

0.405g  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$  anhidro  
0.263g de ácido cítrico monohidro

disolver en 300 ml de agua destilada y llevar a 500 ml ajustar pH a 5.5 con 1N de HCl o 1N NaOH

#### C. Buffer de Reacción:

2.4g base trizma  
0.8g clóruo de magnesio  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$   
0.146g EDTA

Disolver en 150 ml de agua destilada y llevar a 200 ml con agua destilada. Ajustar pH a 8.0 con 6N HCL si fuera necesario.

#### D. Gel:

0.9g de Isogel EEO-0 disolver en 90 ml de buffer del gel calentar hasta que la solución esté clara, ajustar el volumen a 90 ml con agua destilada si fuera necesario. vertir la mezcla en un plato de vidrio de 20 x 20.

## APENDICE B

### Glosario

**Alelo:** Uno de un par o serie de genes alternativos que aparecen en un locus determinado en un cromosoma (Gardner, 1980).

**Cromosoma:** Cuerpo nucleoproteico que contiene a los genes que se encuentran dispuestos en una forma lineal (Gardner, 1980).

**Electroforesis:** Movimiento de partículas cargadas en solución bajo la influencia de un campo eléctrico (U.S. Dept. of Justice, 1983).

**Enzimas:** Proteínas especializadas en catalizar una reacción metabólica específica (Lehninger, 1982).

**Fenotipo:** Característica de un individuo observada o discernible por otros medios (por ejemplo: tipo sanguíneo en el hombre) (Gardner, 1980).

**Frecuencia Genética:** Representación de la proporción de un alelo en una población reproductivamente activa (Gardner, 1980).

**Gene:** Partícula determinante en la herencia, unidad de DNA situada en un lugar fijo en el cromosoma.

**Genética de Poblaciones:** Estudio de los genes en las poblaciones. Rama de la genética que describe en términos matemáticos las consecuencias de la herencia a nivel poblacional.

**Genoma:** Serie completa de cromosomas (por lo tanto de genes) transmitidos unitariamente por un progenitor (Gardner, 1980).

**Genotipo:** Constitución genética manifiesta y latente de un organismo (Gardner, 1980).

**Glucólisis:** Forma de fermentación en la cual la glucosa se separa en dos moléculas de piruvato (Lehninger, 1982).

**Herencia:** Transmisión de caracteres por los progenitores a sus descendientes (Gardner, 1980).

**Locus:** Posición fija ocupada en un cromosoma por un determinado gene o por uno de sus alelos (Gardner, 1980).

**Marcador Genético:** Expresión bioquímica de la información contenida en los genes (U. S. Dept. of Justice, 1983).

## APENDICE C

### Cálculo de las Frecuencias Genéticas

Al calcular las frecuencias genéticas de los alelos se considera la frecuencia de todos los fenotipos donde estos alelos se expresaron. En el caso de los homocigotos se asume que un mismo alelo está presente dos veces.

Las frecuencias se calcularon a partir de los resultados en el Cuadro 1.

Frecuencia Genética =  $\frac{\text{No. total de veces que el alelo ocurrió}}{\text{No. total de veces que el alelo pudo ocurrir}}$

Alelo PGM<sub>1</sub><sup>1+</sup>:

$$\frac{58(2) + 123 + 37 + 18}{776} = .379$$

Alelo PGM<sub>1</sub><sup>1-</sup> :

$$\frac{86(2) + 123 + 20 + 28}{776} = .442$$

Alelo PGM<sub>1</sub><sup>2+</sup> :

$$\frac{14 + 4 + 37 + 20}{776} = .097$$

Alelo PGM<sub>1</sub><sup>2-</sup> :

$$\frac{14 + 4 + 18 + 28}{776} = .082$$

-----  
1.000

**Cálculo de Frecuencia Genética Esperada Según Ley de Hardy-Weinberg:**

$p^2$	=	$(.379)^2$	=	.144
$q^2$	=	$(.442)^2$	=	.195
$r^2$	=	$(.097)^2$	=	.009
$s^2$	=	$(.082)^2$	=	.007
$2pq$	=	$(.168)2$	=	.336
$2pr$	=	$(.037)2$	=	.074
$2ps$	=	$(.031)2$	=	.062
$2qr$	=	$(.043)2$	=	.086
$2qs$	=	$(.036)2$	=	.072
$2rs$	=	$(.008)2$	=	.016
				-----
				1.001

## APENDICE D

### Cálculos Para Obtener Chi-Cuadrado

Para los resultados de Guatemala:

Ho: La población se comporta según población en equilibrio de Hardy Weinberg.

Ha: La población no se comporta según población en equilibrio de Hardy Weinberg.

$$X^2 = \sum \frac{(\text{observada} - \text{esperada})^2}{\text{esperada}}$$

Según resultados de cuadro 2:

$$\begin{aligned} & \frac{(86 - 75.66)}{75.66} + \frac{(123 - 130.37)}{130.37} + \frac{(58 - 55.87)}{55.87} + \frac{(20 - 33.87)}{33.87} \\ & + \frac{(37 - 28.71)}{28.71} + \frac{(28 - 27.94)}{27.94} + \frac{(18 - 24.06)}{24.06} + \frac{(14 - 6.21)}{6.21} \\ & = 22.07 \end{aligned}$$

grados de libertad:  $n-1 = 8$  ( $.005 < p < 0.010$ )

Se rechaza Ho debido a que la población no se comporta como población en equilibrio de Hardy-Weinberg.

## APENDICE E

## Lista de reactivos, y equipo, fuentes y No. de catálogo

1.	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ monohidratado (uso forense)	Seri C-606 1185-5
	Seri = serological research institute	
2.	ácido cítrico monohidratado	Sigma C7129 Lot. 30H0628
3.	TRIZMA	SigmaT-1503
4.	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Sigma M-0250
5.	Agar de Isogel EEO = 0.0	Seri R523-2
6.	Dithiothreitol (Cleeland's reagent)	Sigma D-0632
7.	Glucosa-1-fosfato w/1% glucosa-1,6-di-fosfato	Sigma 01259
8.	NADP	Seri R565
9.	MTT (3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-(-2,5 dipheryltetrazolium bromide)	Sigma M2128
10.	EDTA (ethylene diamine tetracetic acid)	Sigma ED55
11.	Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa	Seri R582-2 No. 1006
12.	Meldola blue (8-dimethylamino-2,3 benzophe noxazine)	Sigma D-8142
13.	Cámaras para electroforesis	Seri E005
14.	Cortadores de pozos	Seri E019
15.	Cajas de luz para ver resultados	Seri E019