



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

El uso forense de las bases de datos de ADN

TESINA QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

JESSICA ANAID JIMÉNEZ PÉREZ

ASESOR DE TESIS:

DRA. RAQUEL RETANA UGALDE



MÉXICO D.F. 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Contenido

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. MARCO TEÓRICO.....	4
III.1 PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA MOLÉCULA DE ADN	4
III.2 TIPOS DE ADN	6
III.3 ADN: MATERIAL GENÉTICO Y HEREDITARIO	7
III.4 ESTRUCTURA DEL GENOMA HUMANO	10
III.5 MARCADORES GENÉTICOS	12
III.6 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE INTERES FORENSE.....	17
III.7 ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS.....	25
III.8 DETECCIÓN DE ADN AMPLIFICADO	30
III.9 ANÁLISIS DE LOS PERFILES GENÉTICOS OBTENIDOS.....	37
III.10 IMPORTANCIA FORENSE DEL ADN	39
III.11 VALORACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRUEBA: TEOREMA DE BAYES	41
III.12 IMPORTANCIA DE LAS BASES DE DATOS DE ADN	44
III.13 TIPOS DE BASES DE DATOS.....	47
III.14 CODIS (Sistema Combinado de Índice de ADN)	49
III.15 LEGISLACIÓN DE LAS BASES DE DATOS	50
III.16 PROPUESTA TÉCNICA DE INICIATIVA DE LEY PARA LA BASE DE DATOS GENÉTICOS FORENSE EN MÉXICO.	54
III.17 LEY REGULADORA DE LA BASE DE DATOS GENÉTICOS PARA EL ESTADO DE CHIHUAHUA	65
IV. OBJETIVOS	66
V. MATERIAL Y MÉTODO.....	67
VI. DISCUSIÓN.....	68
VII. CONCLUSIÓN.....	71
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
IX. GLOSARIO.....	75

I. RESUMEN

El presente trabajo es una revisión bibliográfica sobre el uso de las bases de datos de ADN en los laboratorios forenses con fines legales o para la investigación en el esclarecimiento de crímenes. Se revisaron las condiciones de un presunto culpable o imputado para que su información genética sea ingresada a una base de datos y cuáles son los tipos de éstas que son manejadas. Diversos países principalmente europeos han desarrollado una legislación específica respecto al uso de perfiles de ADN estructurados en una base de datos, pues son una herramienta muy eficaz para reducir la frecuencia con la que algunos delitos son cometidos.

Se revisó y analizó la postura de la legislación mexicana ante esta nueva forma de investigación criminal y qué se ha hecho al respecto en la materia, tomando como ejemplo el caso del Estado de Chihuahua en donde ya se cuenta con una base de datos y la propuesta de iniciativa de ley en el Distrito Federal. Así mismo se puntualizaron los lineamientos legislativos en relación a estas iniciativas en nuestro país.

El aprovechamiento de nuevas herramientas científicas que permitan prevenir y combatir el delito es, ciertamente, un objetivo legítimo para cualquier gobierno. Sin embargo en un sistema constitucional respetuoso de los derechos inherentes al ser humano, toda iniciativa gubernamental relacionada con el genoma debe tener como límite preciso y necesario el respeto a la integridad corporal de las personas, así como la protección de la información sensible que contiene el ADN y que confiere características únicas al derecho a la intimidad o privacidad de la información genética.

Hoy en día es importante conocer que gracias a la genética forense y a nuevas herramientas de investigación se pueden resolver delitos de una manera más eficaz y eficiente, ya que permite el reconocimiento de personas por ejemplo en casos de niños y adultos extraviados, secuestradores, narcotraficantes, homicidas, violadores, etc. Por tal motivo es necesario que se tome la iniciativa para legislar el uso de bases de datos en México y así con esta rama de las ciencias forenses se apoyará la procuración e impartición de justicia en nuestro país.

II. INTRODUCCIÓN

El ADN es diferente en cada persona, la distingue y la singulariza dentro de un grupo de personas, pero, al mismo tiempo que la diferencia, permite establecer su vinculación con otros sujetos, es decir, conocer por ejemplo en qué grupo familiar encaja. En este sentido en 1985 el genetista británico Alex Jeffreys, junto a otros investigadores, empezó a hablar de “DNA fingerprints” o huella genética, para referirse al perfil genético, esto es, a la información que proporciona el estudio de ciertas regiones del ADN características de cada individuo. A finales del siglo XIX, el ADN con fines de identificación es el mecanismo más seguro y preciso, aceptado *“universalmente en el ámbito de la investigación biológica de paternidad o maternidad y en la resolución de casos criminales”*. Eso es debido a que cada individuo posee un código genético exclusivo que es posible individualizar a través de muestras biológicas mínimas. Las características particulares de la información genética, especialmente su singularidad e inalterabilidad, los convierten en una poderosa herramienta de identificación.

El uso de perfiles genéticos, es más frecuente como herramienta para resolver casos criminales. De hecho, este tipo de análisis se ha convertido a nivel mundial en una prueba de carácter fundamental en cualquier proceso de investigación penal. En países como Inglaterra, Estados Unidos o Canadá, los arrestados, procesados y/o condenados por la comisión de un delito están obligados a someterse a un proceso de extracción de una muestra biológica (Ej.: sangre o saliva). Esas muestras son luego analizadas para obtener las secuencias numéricas o perfiles de ADN. Estos perfiles individuales, a su vez, se cargan y almacenan en bases de datos que solo algunas personas calificadas del gobierno tienen acceso. Del mismo modo, se almacenan perfiles de ADN que se obtienen del análisis forense de evidencias recogidas en distintas escenas del crimen (Ej.: tejidos, sangre, pelos, etc.). La posterior comparación entre el perfil de ADN que se obtiene del análisis de estas evidencias y los perfiles individuales ya cargados en esas bases de datos puede arrojar una coincidencia.

La iniciativa de utilizar perfiles genéticos como herramienta eficaz en la investigación criminal hace que se tome en cuenta la relevancia del tema y los complejos problemas constitucionales que suscitan tanto la existencia de este tipo de bases de datos, como el uso de la información genética en el ámbito penal, corresponde analizar cuidadosamente la cuestión. Para ello, resulta de fundamental importancia demostrar la existencia del derecho a la privacidad o intimidad de la información genética y delimitar su alcance con precisión, ya que a nivel doctrinario, existen discrepancias y múltiples definiciones con relación a este derecho.

La importancia de este trabajo radica en la necesidad de dar a conocer que existen herramientas que pueden ser confiables y eficaces en la procuración de justicia. Los análisis de ADN ofrecen la ventaja de ser precisos y con alto grado de discriminación entre diferentes individuos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permite que, aunque la cantidad de muestra sea mínima (restos de saliva, un cabello) el ADN se pueda replicar y obtener una cantidad de muestra óptima y además se puede utilizar incluso aunque los vestigios biológicos sean muy antiguos. El análisis de ADN se ha convertido en un instrumento muy valioso para la moderna pericia forense y proporciona una respuesta más eficaz a las exigencias de la sociedad respecto de la persecución de los responsables de los delitos.

III. MARCO TEORICO

III.1 PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA MOLÉCULA DE ADN

La unidad básica de la vida es la célula, la cual es una fábrica en miniatura que produce energía y que tiene la capacidad de remover desechos para mantener la vida. Dentro del núcleo celular existe una sustancia química conocida como ADN que contiene el código genético para la replicación celular y la producción de proteínas necesarias.

El Acido Desoxirribonucleico, o ADN, se refiere a nuestro código genético ya que almacena la información genética necesaria que se heredará a futuras generaciones.

El ADN tiene dos propósitos principales: (1) hacer copias de sí mismo para que la célula pueda dividirse y tengan la misma información; y (2) llevar las instrucciones para la construcción de proteínas necesarias para las funciones vitales de la célula.



Figura 1.1 Molécula de ADN. (Tomado de: Buttler, 2009).

III.1a) ESTRUCTURA DEL ADN

El ADN está compuesto de unidades llamadas nucleótidos que están conformadas de tres partes: una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato, la variabilidad en cada nucleótido es atribuida a las diferentes bases nitrogenadas, el grupo fosfato y el azúcar forman la columna vertebral de la molécula (figura 1.2).

El alfabeto del ADN está formado por las cuatro bases nitrogenadas: A (adenina), T (timina), C (citosina), y G (guanina), las variantes en las combinaciones de estas moléculas confieren la diversidad biológica entre los seres vivos.

El humano tiene aproximadamente 3 billones de posiciones de nucleótidos en su genoma, con 4 posibilidades (A, T, C, G) en cada posición; millones y millones de combinaciones son posibles.¹

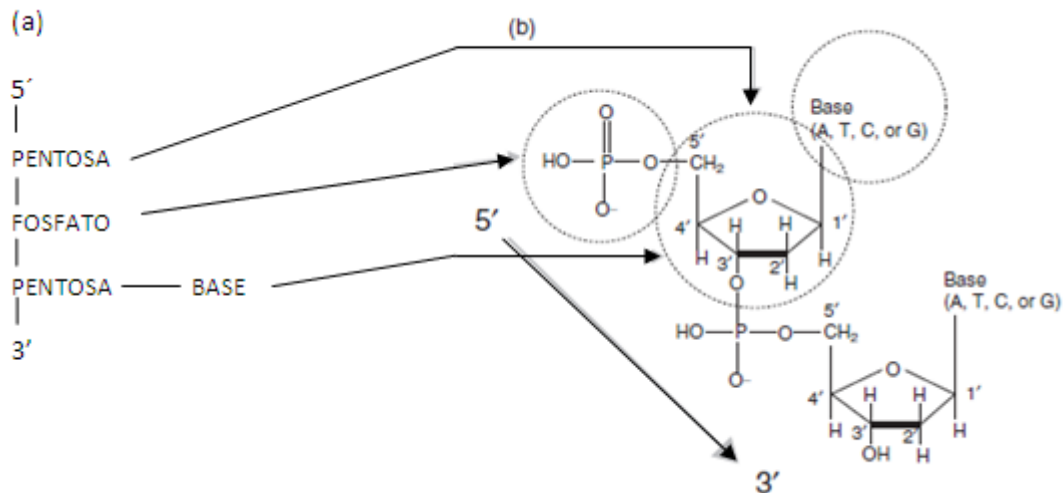


Figura 1.2 componentes básicos de ADN: (a) columna vertebral del ADN, la base nitrogenada está unida a la molécula de azúcar; (b) estructura molecular, se ilustra la numeración de los átomos de carbono, la secuencia del ADN es convencionalmente escrita de 5' a 3'. (Tomado de: Koblinsky, 2007).

III.Ib) HIBRIDACIÓN DE LAS CADENAS DE ADN

En la estructura de doble hélice descrita por Watson y Crick en 1953, las dos cadenas de ADN están unidas por un proceso llamado hibridación, los nucleótidos están unidos a sus bases complementarias por enlaces de hidrógeno, la adenina solo hibrida con la timina por medio de dos enlaces de hidrogeno y la citocina solo con la guanina por tres en laces de hidrógeno (figura 1.3).

Las cadenas de ADN son antiparalelas, esto es, que una de las cadenas está orientada de 5' a 3' mientras que la complementaria se orienta de 3' a 5' en relación con la primera cadena.

El proceso contrario a la hibridación es la desnaturalización la cual se puede llevar a cabo por un tratamiento químico o físico, el proceso en el cual las dos cadenas complementarias se vuelven a unir se llama renaturalización.²

¹ Buttler J. *Fundamentals of forensic DNA typing*. USA: Elsevier; 2009.

² Koblinsky L, Levine L. *Forensic DNA analysis*. USA; Chelsea House; 2007.

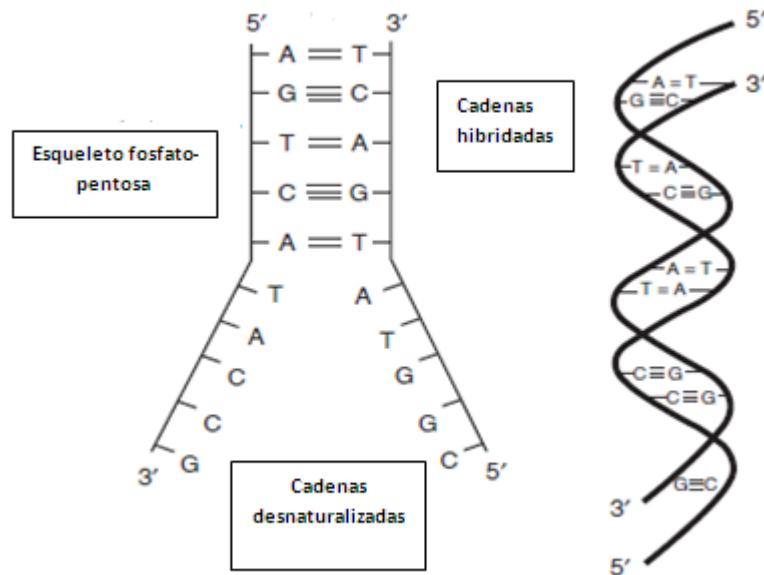


Figura 1.3 Estructura de doble hélice. (Tomado de: Woodwin, 2007).

III.2 TIPOS DE ADN

III.2 a) ADN MITOCONDRIAL

Además del ADN nuclear, las células humanas contienen un pequeño genoma circular (de 16.569 nucleótidos) que se encuentra dentro de las mitocondrias (los orgánulos celulares del citoplasma celular cuya función principal es la producción de energía) y que se hereda exclusivamente por la vía materna ya que las mitocondrias son aportadas por el citoplasma del óvulo.

Se trata, además, de un genoma cuyo estudio ofrece una ventaja importante con respecto al estudio del ADN nuclear: Su gran sensibilidad. Es un genoma que se presenta en un gran número de copias (hay 100-10000 copias de ADN mitocondrial por cada copia de genoma nuclear, según el tipo celular) y, por tanto, será de aplicación en muchos casos en los que no sea posible la obtención de ADN nuclear. La variabilidad genética del ADN mitocondrial es menor que la del ADN nuclear.

El ADN mitocondrial se hereda de forma inalterada de madres a hijos todos los miembros de una familia que compartan la línea materna tendrán el mismo perfil de ADN mitocondrial. Es decir, que este tipo de ADN más que perfiles individuales permite identificar linajes maternos.

Cuando existe una gran degradación de las muestras por las malas condiciones de conservación es preferible el análisis de ADN mitocondrial ya que se encontrará en mejor estado que el nuclear debido a su mayor número de copias por célula.

En la identificación de restos biológicos y el establecimiento de una relación familiar cuando no se dispone de los progenitores, no queda más remedio que realizar una comparación con familiares más lejanos. Si se trata de familiares vía materna tendrán exactamente el mismo ADN mitocondrial aunque se trate de familiares lejanos. Un estudio de ADN nuclear en estos casos sería poco informativo ya que cuanto más alejada sea su relación familiar, menos alelos compartirán.

III.2 b) ADN NUCLEAR

El ADN nuclear mide aproximadamente 2 metros de longitud y se localiza justo en el núcleo celular y representa el 99 % del contenido de ADN celular, se encuentra altamente compactado de forma muy específica a ciertas proteínas formando unas estructuras filamentosas denominadas cromosomas.

El genoma nuclear consiste en 22 pares de cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales, **X** y **Y**; y en conjunto cada célula somática tiene 46 cromosomas.

Para la mayoría de los análisis de identificación genética humana se utilizan marcadores polimórficos localizados en cromosomas autosómicos, y la determinación de sexo se lleva a cabo en algunos marcadores de los cromosomas sexuales. No obstante, el análisis de ADN mitocondrial y de otros marcadores de los cromosomas sexuales está ganando un gran interés debido a sus particularidades que se comentaran más adelante.³

III.3 ADN: MATERIAL GENÉTICO Y HEREDITARIO

Dentro del núcleo de las células humanas se encuentra ADN altamente compactado y protegido por proteínas conocidas como histonas, este ADN denso forma a los cromosomas.

Existen 46 cromosomas diferentes o 23 pares, el género masculino esta designado por los cromosomas **XY** y el femenino por **YY** (figura 1.5) ⁴

La región central del cromosoma es conocido como centrómero y controla la disyunción durante la división celular, los centrómeros tiene una especie de "brazos" llamados telómeros (figura 1.4). El brazo corto es designado con la letra "p" mientras que el largo con la letra "q".

³ Alonso A. *Conceptos básicos de ADN forense. Estudios Jurídicos. 2004. Disponible en:*

<http://www.slideshire.net/adnestelamartin/conceptos-basicos-deadnforense>

⁴ Woodwin W, Linacre A. *An introduction to forensic genetics. England: Wiley; 2007.*

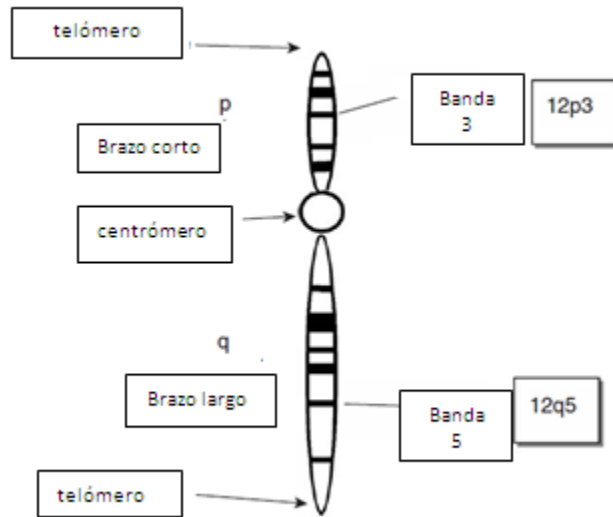


Figura 1.4 Estructura básica del cromosoma. (Tomado de: Butler, 2005).

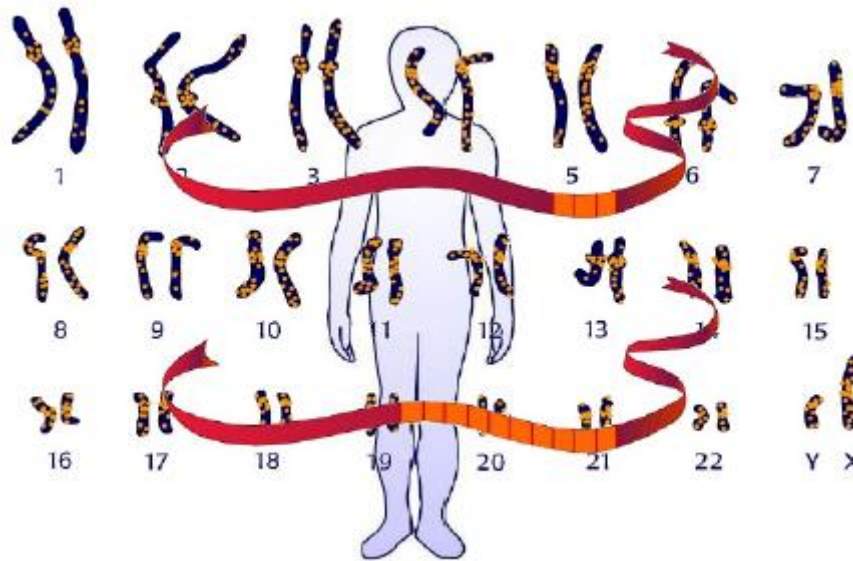


Figura 1.5 Cromosomas humanos.

Las células somáticas (diploides) tienen 46 cromosomas mientras que las células sexuales o gametos tienen 23 cromosomas (haploides), durante la fecundación del espermatozoide y el óvulo se produce una nueva célula diploide que llegará a ser un cigoto.

En las células somáticas del cuerpo, el ADN se encuentra en estado diploide, esto quiere decir que existen dos ejemplares de cada cromosoma. En las células germinales el ADN se encuentra en

estado haploide (como consecuencia de la meiosis en la gametogénesis), es decir, el óvulo y el espermatozoide contienen un sólo cromosoma. Cuando los gametos se combinan durante la fecundación, el cigoto originado vuelve a ser diploide esto es que el individuo (formado por células somáticas idénticas a causa de la mitosis) habrá heredado el 50 % de la información genética del padre y 50% de la madre.

III.3 a) LA HUELLA GENÉTICA

En 1985 en Leicester, Inglaterra Alec Jeffreys descubrió que todos los individuos podían ser identificados a partir de un patrón específico de su ADN. Jeffreys estaba estudiando el gen de la proteína mioglobina, cuando se sorprendió al encontrar que, a lo largo de este gen, aparecían regiones que diferían entre las personas. Las diferencias se visualizaban por métodos indirectos, en forma de bandas de distintos tamaños. Detectó que estas regiones que variaban en tamaño entre las personas estaban dispersas en todo el genoma y que, a partir de ellas, podía definirse lo que el mismo llamo “huella genética”.

Esta huella genética es personal y única para cada sujeto, exceptuando de esta regla a los gemelos univitelinos. Observó también que en cada individuo la mitad de las bandas provenían de la madre y la otra mitad del padre. Como consecuencia de este descubrimiento, los vínculos biológicos entre padres e hijos, hermanos, abuelos y nietos pudieron ser determinados con altísimas probabilidades de parentesco.

De esta manera, con su gran descubrimiento, Jeffreys logró resolver uno de los primeros casos de genética forense.

Un muchacho nacido en Ghana, que residía en Inglaterra con toda su familia, había viajado a su país de origen. Al regresar a Reino Unido fue detenido y se le prohibió la entrada al país, pues las autoridades aludían que su documentación era falsa. El joven insistía en que Inglaterra era su país de residencia y que allí vivía su familia biológica. Entonces el gobierno solicitó a Jeffreys que empleará su tecnología para resolver el conflicto. Los estudios de ADN probaron que, efectivamente, su familia biológica se encontraba allí. Gracias a ello le permitieron ingresar nuevamente al país.

El descubrimiento del científico inglés marcaba el comienzo de una nueva era en la identificación de personas.⁵

⁵ Bernath V. *El ADN como herramienta para la resolución de procesos judiciales. Pasado, presente y futuro.* *Rev Química viva* 2008; 7(2): 103-112.

III.4 ESTRUCTURA DEL GENOMA HUMANO

El ADN en los cromosomas tiene regiones codificantes y regiones no codificantes, las regiones que codifican son llamados genes, hoy se sabe gracias al proyecto del genoma humano que hay poco menos de 30000 genes que codifican para proteínas y no 50000 o 100000 como se pensaba.⁶

Los genes constan de exones que son porciones que codifican proteínas y de intrones, los genes representan solo el 5 % del ADN genómico, las regiones no codificantes representan el resto del genoma, estas regiones no codificantes son utilizados como marcadores para identificación humana.

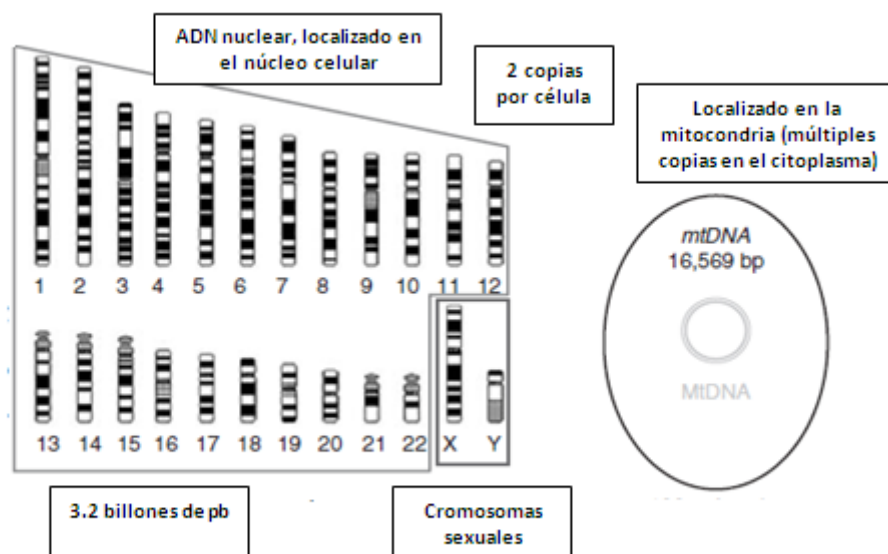


Figura 1.6 El genoma humano. (Tomado de: Koblinsky, 2007).

Los marcadores polimórficos (variables) difieren entre los individuos y son localizados en las regiones no codificantes. La posición cromosómica de un gen o un marcador de ADN en una región no codificante es referida como *locus* (plural: *loci*). Pares de cromosomas son llamados homólogos ya que tienen la misma estructura y tamaño, una copia de cada gen se localiza en el mismo locus en cada cromosoma del par homólogo.

⁶ Farfan MJ. Introducción a la tecnología del ADN aplicada en el laboratorio forense. Estudios jurídicos. 2004. Disponible en: <http://es.scribb.com/doc49422604/introduccion-a-la-tecnologia-del-adn-aplicada-en-el-laboratorio-forense>

Un cromosoma de cada par es heredado por la madre y otro por el padre. La secuencia del ADN en cada cromosoma del par homólogo puede ser idéntica o no serlo debido a que sufre mutaciones transcurrido el tiempo.

Las posibilidades alternativas para un gen o un locus se denominan alelos. Si dos alelos en un locus o cromosomas homólogos son diferentes se conocen como heterocigotos si son idénticos son homocigotos, las diferencias detectables en los alelos de un loci son esenciales para la prueba de identificación humana.

Un genotipo es la caracterización de los alelos presentes en un locus. Si hay dos alelos en un locus "A" y "a", hay tres posibles genotipos: **AA**, **aa**, y **Aa** los dos primeros son homocigotos mientras que el tercero es heterocigoto. Un perfil de ADN es la combinación de genotipos obtenidos para un múltiple loci. La tipificación de ADN es el proceso para determinar el genotipo presente en una región específica a lo largo de la molécula de ADN.

Las regiones de ADN no codificante de mayor interés en genética forense son las denominadas regiones de ADN microsatélite. Se trata de pequeñas regiones ADN repetitivo en tándem (de 100-500 nucleótidos) compuestas por una secuencia de 4-5 bases, que se repite en tándem n veces. Es precisamente el número de veces que se repite esta unidad de secuencia lo que presenta una gran variabilidad entre los individuos de una población. De aquí que a éstas regiones se les denomine "STRs" (del inglés: "Short Tandem Repeats": «pequeñas repeticiones en tándem»). Hoy en día, la mayoría de los análisis forenses de ADN se basan en el estudio simultáneo de un conjunto de 10 a 15 de estas regiones cortas distribuidas en los distintos cromosomas humanos. Un "perfil genético" no es más que el patrón de estos fragmentos cortos de ADN ordenados por su tamaño. Dicho patrón es fácilmente convertible en un sencillo código numérico muy fácil de almacenar, manejar y comparar, ofreciendo un alto poder de discriminación genética tanto en la identificación de vestigios biológicos de interés criminal como en la investigación biológica de la paternidad.

III.5 MARCADORES GENÉTICOS

Las regiones hipervariables o polimórficas son las que nos permiten usar la información genética con fines de identificación, y esta variabilidad se concentra principalmente en el ADN no codificante y que por lo tanto en un análisis de individualización genética con fines forense no puede obtenerse información sobre las características fenotípicas.

Existen dos tipos de polimorfismos:

- De secuencia: en el que los alelos de un sólo locus se diferencian en la base (A, G, C, T) presente en una o más posiciones concretas.
- De longitud: los alelos de un locus se diferencian entre ellos por el número total de bases que lo conforman. El polimorfismo de longitud es muy común en las secuencias repetidas en tándem, en las que el número total de de unidades de repetición definen a cada alelo (Figura 1.7).

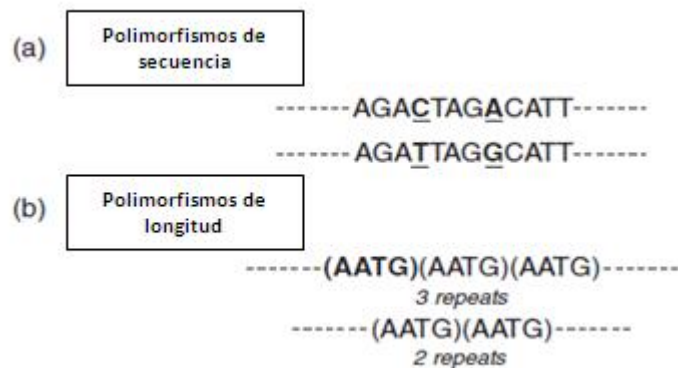


Figura 1.7 Tipos de polimorfismos. (Tomado de: Rapley, 2007).

Las regiones de ADN nuclear de mayor interés en genética forense son los minisatélites o VNTRs (*variable number of tandem repeats*) y los microsatélites o STRs (*short tandem repeats*). A cada uno de estos loci o segmentos de ADN polimórfico se le denomina marcador genético.

El marcador VNTR oscila entre 500 y 10000 nucleótidos, mientras que un STR varía entre 100 y 500 nucleótidos.

El ADN nuclear está presente en todas las células del cuerpo a excepción de los eritrocitos, por lo que es posible su extracción de cualquier material biológico. Generalmente siempre que sea posible se realiza el análisis de polimorfismos de ADN nuclear, pues son lo que mas información

proporcionan para poder identificar la muestra, la decisión de seleccionar una región u otra, radica en los resultados preexistentes que demuestren la eficacia de la PCR.

Cuadro 1. Comparación del método RFLP y PCR.

Características	Método RFLP	Método PCR
Tiempo de obtención de resultados	6-8 semanas	1-2 días
Cantidad de ADN necesaria	50-500ng	0.1-1ng
Condiciones del ADN	Alto peso molecular y ADN intacto	Degradado
Forma del ADN	Debe ser doble cadena	Cadena doble o sencilla
Poder de discriminación	1 en 1 billón con 6 loci	1 en 1 billón con 8-13 loci
Automatizable y capaz de procesar un alto volumen de muestra	No	Si
Marcadores utilizados comúnmente	D1S7, D2S44,D4S139,D5S110 D7S467,D10S28,D17S79	DQA1, D1S80, STR loci: TH01, VWA,FGA, TPOX, CSF1PO, D3S1358,D5S818, D7S820, D8S1179,D13S317, D16S539, D18S51, D21S11

Para realizar el análisis de estos polimorfismos se tienen dos métodos que son polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), a continuación se presentan algunas características⁷.

III.5 a) VNTR (número variable de repeticiones en tándem)

Los VNTRs están localizados predominantemente en la región subtelomérica de los cromosomas y tienen un tamaño de 6 a 100 pares de bases (pb), la variación en el número de repeticiones crea alelos con un tamaño de 500 pb a 30 kilobase (kb). El número de alelos puede ser muy largo: el locus MS1 tiene repeticiones de 9 (pb) con alelos de un tamaño de 1 (kb) – lo cual significa que hay más de 2000 diferentes alelos en ese locus.

Los VNTR fueron los primeros polimorfismos usados para realizar perfiles genéticos y fueron utilizados con éxito por mucho tiempo. Sin embargo el uso de este marcador fue limitado por el tipo de muestra requerida, se necesita una gran cantidad de ADN y su interpretación puede ser problemática. Su uso en genética forense ha sido reemplazado por los STRs.

III.5 b) STR (pequeñas repeticiones en tándem)

Los STR son en la actualidad los marcadores más utilizados en genética forense, fueron introducidos a mediados de los 90´.

Los STR se extienden por todo el genoma incluyendo los 22 cromosomas autosómicos y los cromosomas sexuales, tienen una unidad básica que va de 1 a 6 pb y las repeticiones son de de 50 a 300 pb. La mayoría de los loci que son usados tienen repeticiones tetranucleótidas.

Los STR satisfacen todos los requerimientos para un marcador forense, son: altamente discriminatorios especialmente cuando se analizan varios loci simultáneamente, son muy sensibles, requieren de mínima muestra y los resultados se comparan fácilmente (cuadro 1)⁸.

⁷ Butler J. *Forensic DNA typing*. 2ª ed. USA: Elsevier; 2005.

⁸ Woodwin W, Linacre A. *An introduction to forensic genetics*. England: Wiley; 2007.

III.5 c) SNP (Polimorfismos de un sólo nucleótido)

Es el tipo más simple de polimorfismo, existen diferencias de una sola base en su secuencia de ADN. Los SNPs son formados durante mutaciones que ocurren en la replicación de ADN; hay regiones del genoma que son más ricas en estos polimorfismos que otras, por ejemplo el cromosoma 1 contiene un SNP cada 1.45 kb comparado con el cromosoma 19 que tiene 1 cada 2.18 kb ⁹.

Los SNPs tienen un gran interés en genética forense por varias razones:

- No presentan fenómeno de bandas stutter, por lo que permitirían discriminar más fácilmente si una muestra es de origen único o de una mezcla.
- Presenta un mayor potencial que los STRs para el desarrollo de sistemas multiplex.
- El procesado de las muestras y el análisis de datos es susceptible de una alta automatización.
- Los productos de PCR para el análisis de SNPs pueden ser menores de 100 pares de bases, por lo que son apropiados para el análisis de muestras degradadas.

Los SNPs normalmente tienen sólo dos alelos, por ejemplo un alelo con una guanina y uno con una adenina, y por lo tanto no son altamente polimórficos y no encajan con las propiedades ideales de los marcadores para análisis forense, sin embargo son tan abundantes en el genoma que es teóricamente posible tipificar cientos de ellos; esto hace que el poder de discriminación sea muy alto. Se estima que para lograr el mismo poder discriminatorios de 10 STRs, deben analizarse de 50 a 80 SNPs, pero actualmente debido a la tecnología eso es poco práctico.

III.5 d) STR DEL CROMOSOMA Y

El cromosoma **Y** presenta una diferencia importante respecto al resto de cromosomas, su herencia es exclusivamente paterna, es decir, se transmite de padres a hijos varones sin que exista la posibilidad de recombinación. Por tanto, la información genética contenida en el mismo se hereda como *haplotipo*, o sea, los genotipos para cada uno de los marcadores del cromosoma **Y** se transmiten en bloque y no de forma independiente. De esta forma, salvo posibles mutaciones, todos los individuos varones emparentados por vía paterna comparten el mismo haplotipo para el cromosoma **Y**.

⁹ Rapley R, Whitehouse D. *Molecular forensics. England : Wiley; 2007.*

En genética forense este marcador es muy útil en casos de agresión sexual, el uso de marcadores específicos del cromosoma **Y** aumenta las posibilidades de detectar ADN masculino en evidencias donde existe mezcla de células.¹⁰

III.5 e) AMELOGENINA UN MARCADOR DE SEXO

La amelogenina es una proteína codificada en los cromosomas sexuales. Existe una diferencia de 6 pares de bases entre el tamaño del alelo presente en el cromosoma **X** y el **Y**, que se debe a una pequeña *delección* en el cromosoma **X**. El resultado de la amplificación por PCR de este locus en un ADN femenino (**XX**) será de una única banda (de 106 pares de bases, con los cebadores más comúnmente utilizados), mientras que si el ADN es masculino (**XY**), el resultado serán dos bandas de distinto tamaño (106 y 112 pares de bases, comúnmente).

Se debe tener en cuenta que aunque con muy poca frecuencia se ha detectado deleciones en ésta región del cromosoma **Y** por lo que a una muestra masculina se le puede asignar el género femenino erróneamente.¹¹

¹⁰ Butler J. *Forensic DNA typing. Biology and technology behind STR markers*. USA: Academic Press; 2001.

¹¹ Velarde J, Molina C, Rendon H. *Identificación del sexo mediante análisis molecular del gen de la amelogenina*. Rev Medigraphic 2007.

III.6 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE INTERES FORENSE

Para determinar dentro del laboratorio forense a quién pertenece la muestra o indicio biológico en estudio se recurre a realizar un análisis de ADN. La molécula de ADN está dentro de las células que componen tejidos, previamente al análisis, el ADN debe aislarse y separarse de todos los componentes celulares. Una vez separada la molécula completa es necesario estudiar sólo ciertas regiones de ella como son las zonas polimórficas.

III.6 a) EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN

La extracción de ADN debe ser eficiente, se debe extraer suficiente ADN de una muestra para realizar el análisis, si esto no se realiza adecuadamente la cantidad de ADN puede disminuir y además se puede contaminar. Una vez que el ADN ha sido extraído es importante cuantificarlo con precisión para su posterior análisis.

III.7 b) Extracción de ADN

La elección de cual método utilizar en una extracción depende principalmente del tipo de muestra y cantidad, en algunos casos la capacidad para automatizar el procedimiento de extracción; el éxito de este procedimiento en muestras forenses se debe a la máxima extracción de ADN de una muestra y al mismo tiempo la remoción de inhibidores de PCR.

Existen tres principios para la extracción de ADN:¹²

- Disrupción de la membrana celular (lisis celular).
- Desnaturalización de proteínas.
- Separación del ADN de proteínas desnaturalizadas y otros componentes celulares.

A) *Chelex*® 100 resina

Este es una de las primeras técnicas de extracción, es una resina compuesta de un copolímero de estireno divinil benceno que contiene iones iminodiacetato. La resina tiene una gran afinidad por iones metálicos polivalentes como el magnesio (Mg^{2+}); los quelatos del metal se remueven de la solución.

Se hace una suspensión al 5 % de la resina usando agua destilada, la muestra biológica es incubada con la suspensión a 56 °C por 30 minutos. La proteinasa K digiere la mayoría de las proteínas celulares, después de 8 a 10 minutos a 100 °C todas las células se han lisado y las proteínas se desnaturalizan, después de una centrifugación, la resina, proteínas y componentes celulares quedan

¹² Woodwin W, Linacre A. *An introduction to forensic genetics*. England: Willey; 2007.

en el fondo del tubo, quedando el ADN en la solución acuosa el cual va a ser utilizado en la PCR. La suspensión de Quelex es alcalina tiene un pH entre 9 y 11 por lo que el ADN que se aísla es monocatenario.

Las ventajas de este método es que es muy rápido, se realiza en un sólo tubo lo que evita la pérdida de ADN, es relativamente barato, no se utilizan químicos fuertes. Es importante destacar que puede ser utilizado en una amplia gama de muestras forenses.

B) Extracción de ADN basado en sílice

Generalmente en la biología molecular el fenómeno “Salting out” ha sido extensamente utilizado. El primer paso para la extracción es la incubación del material celular con un buffer de lisis que contiene un detergente con proteinasa K, los detergentes más utilizados son duodecil sulfato de sodio (SDS), tween 20, tritón X-100 y nonidet P-40. La sal caotrópica agregada durante o después de la lisis desnaturaliza las proteínas por rompimiento de los puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, algunas de éstas sales son tiocianato de guanidina o cloruro de sodio.

Las proteínas celulares son insolubles en presencia de una sal caotrópica por lo que pueden ser removidas por filtración o centrifugación. La reducción de la solubilidad de las proteínas es causada por el exceso de iones en una alta concentración de sal, las proteínas compiten con los iones por el solvente acuoso provocando la deshidratación de las mismas.

Los diferentes métodos de extracción se basan en la unión del ADN a la sílice en presencia de una sal caotrópica, después de que los demás componentes celulares han sido removidos, el ADN se puede separar de la sílice a través de una suspensión en agua.

Las ventajas de este método son: se obtiene un alto rendimiento de ADN, el ADN es de alta pureza, no se utilizan reactivos nocivos. En comparación con el *Chelex*® 100 el procedimiento con sílice requiere más tiempo y se necesitan varios cambios de tubos por lo que si no se realiza el procedimiento correctamente se corre el riesgo de contaminación cruzada.

C) Extracción fenol-cloroformo

Este método ha sido ampliamente utilizado en biología molecular, sin embargo, se ha dejado de utilizar desde mediados de 1990 debido a la toxicidad del fenol, todavía se utiliza en algunos laboratorios forenses para extracción de ADN en huesos y suelos¹³.

La lisis celular se realiza como un método previo, el fenol-cloroformo se añade al lisado celular en donde el fenol tiene como acción desnaturalizar las proteínas. El extracto es centrifugado y la precipitación de las proteínas forman una película en la interfase entre la fase orgánica y la fase acuosa, este procedimiento se realiza una o dos veces hasta que ya no es visible la película. El ADN es purificado de la fase acuosa por precipitación con etanol o por centrifugación.

El método permite obtener un ADN limpio pero tiene algunos inconvenientes por supuesto la naturaleza tóxica del fenol y que la actividad puede llegar a ser tardada y laboriosa.

D) Papel FTA ®

Las tarjetas de papel FTA ® son de celulosa y están impregnadas con químicos que promueven la lisis celular, por lo que el ADN queda unido al papel. Contiene además antibióticos y antimicóticos que evitan el crecimiento microbiano por lo que las tarjetas se pueden almacenar por mucho tiempo y son estables a temperatura ambiente.

Para analizar la muestra el primer paso es perforar círculos del papel de 2 mm de diámetro y colocarlos en un tubo de 1.5 mL, se realizan lavados eliminando así todos los componentes que no son ADN. Una vez que solo el ADN está en la tarjeta se realiza la PCR. Los lavados del ADN es muy simple y se realiza en el mismo evitando así pérdidas del material.

Existe una extracción diferencial que es utilizada en los laboratorios forenses del FBI para la diferenciación de fracciones masculinas y femeninas en casos de crímenes sexuales en donde hay una mezcla de células, esta extracción es una versión modificada del método de extracción orgánica que separa células espermáticas de las células epiteliales (fig. 1.8).

¹³ Carracedo A. *Methods in molecular biology. Forensic DNA typing*. New Jersey: Humana Press; 2005.

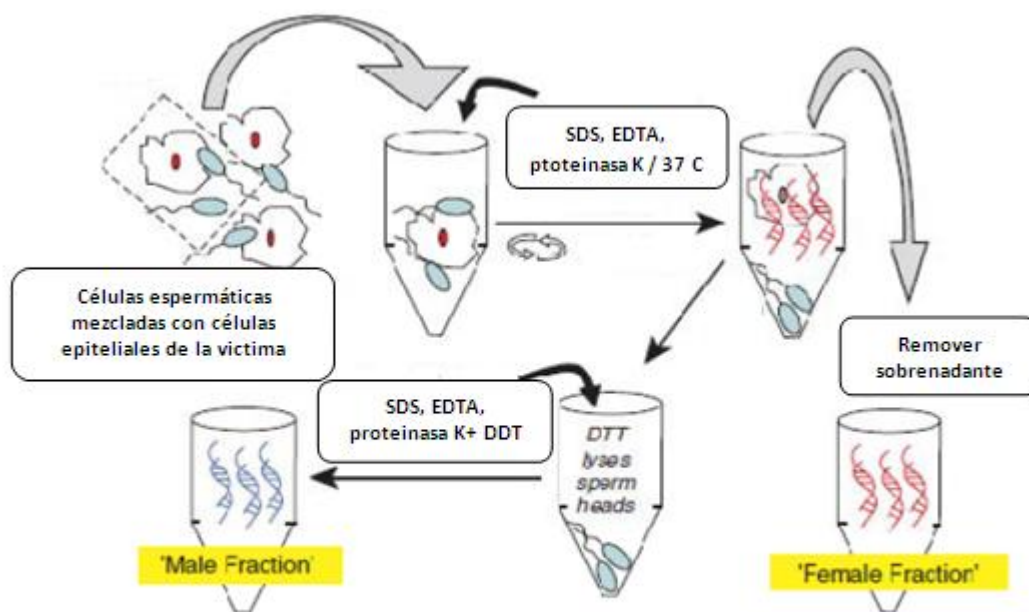


Figura 1.8 Extracción diferencial. (Tomado de: Hanson, 2008).

Durante el procedimiento se rompen las células epiteliales femeninas con una incubación de ADS/proteinasa K; el núcleo de la célula espermática es después lisado por un tratamiento con una mezcla de ADS/ proteinasa K/ ditiotreitolo (DTT).

III.7 c) Purificación de ADN

El tratamiento de muestras forenses como sangre, saliva o espermatozoides puede llegar a ser complicado debido a que las cantidades de estas muestras generalmente son muy reducidas, además durante el proceso de extracción también se puede extraer sustancias distintas a los ácidos nucleicos los cuales pueden afectar los análisis posteriores por ejemplo la PCR puede ser inhibida. Por esta razón es importante la purificación de los extractos de ADN.

En el mercado existen filtros especiales de tipo Centricon y Microcon (AMICON, USA)¹⁴. Los filtros tienen una membrana hidrofílica con baja capacidad de adsorción, lo cual permite el paso a través de ella de gran parte del solvente del extracto y solutos de bajo peso molecular, reteniendo los solutos más pesados, consiguiendo la concentración del ADN con poca pérdida de este.

III.7 d) Cuantificación de ADN

¹⁴ Hanson O, Albinsson L. Automatic data processing of reference DNA profiles from FTA and non-FTA samples. *Forensic science international: genetics supplement series 1* 2008, 29-31.

Después de la extracción es importante conocer la cantidad de ADN obtenido, para añadir la cantidad correcta de ADN en el proceso de PCR y así obtener mejores resultados en menor tiempo posible. Si durante la PCR no se trabaja con la cantidad suficiente de ADN resultará un perfil difícil o incluso imposible interpretar.

La cuantificación es especialmente importante en los casos donde es difícil saber cómo fue preservada la muestra y también cuando no se puede estimar la cantidad de ADN presente. La cuantificación es menos importante cuando se usan muestras de referencia. Aun así muchos laboratorios siguen cuantificando ADN en muestras de referencia como parte de análisis estándar.

En respuesta a la cuantificación de ADN en muestras recuperadas de la escena del crimen, el consejo asesor de ADN en los Estados Unidos adoptó normas que hacían obligatoria la cuantificación de ADN humano.

A) Electroforesis en gel de agarosa

Un método fácil y rápido para evaluar la cantidad y calidad de ADN es visualizarlo en gel de agarosa. El ADN se coloca dentro de pozos que se le han hecho a la placa, se sumerge en un buffer de electroforesis; una corriente eléctrica se aplica a través de la placa y el ADN cargado negativamente migra hacia el ánodo.

El gel de agarosa forma una matriz porosa donde las moléculas de ADN pequeñas migran más rápidamente que las grandes. Colorantes como el bromuro de etidio se intercala con la doble hélice y se pueden añadir al gel o después de la electroforesis (fig. 1.9), la cantidad de colorante intercalada es proporcional a la cantidad de ADN. El ADN se visualiza colocando la placa en una lámpara de luz UV a 260 nm (longitud de onda de mayor absorción de ADN). La cuantificación de estándares se puede ejecutar junto con las muestras desconocidas lo que permite estimar la cantidad de ADN.

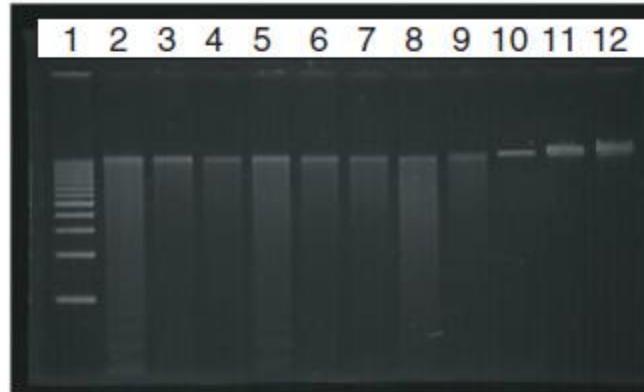


Figura 1.9 Corrimiento de ADN en gel de agarosa, las bandas pueden ser visualizadas por la tinción con bromuro de Etidio y son observadas bajo luz uv.(Tomado de: Buckleton, 2005).

La desventaja es que la cuantificación es relativa ya que depende de la intensidad de las bandas, es difícil cuantificar ADN degradado ya que no existen estándares de referencia para este ADN, es muy importante que no haya mezcla de ADN humano y microbiano ya que en la electroforesis se cuantifica el ADN total lo que podría dar una falsa cantidad de ADN humano. La extracción con Quelex no es apropiada cuando se utilizan colorantes ya que estos se intercalan en ADN de doble cadena y la extracción con Quelex permite obtener ADN monocatenario.

B) Espectrofotometría de ultravioleta

Como ya se menciona anteriormente el máximo de absorción de ADN es a 260 nm. Ésta característica es utilizada para cuantificar el ADN por la medición en rango de longitud de onda que va de 220 nm a 300 nm. La lectura a 260 nm permite el cálculo de la concentración de ácido nucleico de tal manera que los resultados de 1DO (densidad óptica) corresponden aproximadamente a 50 µg/mL de ADN de doble hebra, 40 µg/mL de ADN de hebra simple y ARN.

La relación de las absorbancias a 260 nm y 280 nm da la estimación de la pureza de los ácidos nucleicos la cual debe ser entre 1.8 y 2.0 (fig. 1.10).

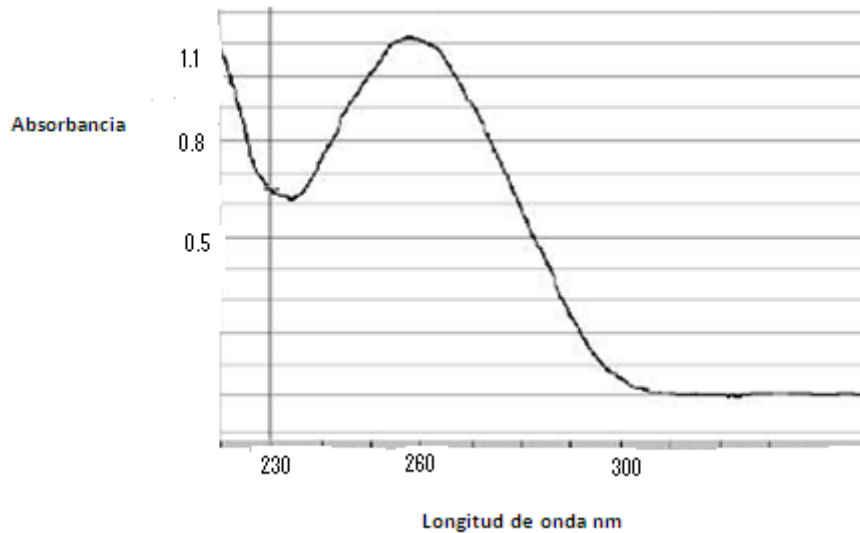


Figura 1.10 La absorción de luz UV del ADN presenta un pico máximo de 260 nm, el ratio 260:280 es de 1.91, lo cual indica que no presenta contaminación con proteínas. (Tomado de: Butler, 2009).

C) Hibridación

Existe un kit comercial para este método Quantiblot® (Applied Biosystems), es un kit de cuantificación de ADN que se basa en la hibridación de un sonda de oligonucleótido biotinilado a ADN muestra que se inmoviliza en una membrana de nylon. La sonda es complementaria a la secuencia alfa satélite en el locus D17Z1. La sonda puede ser marcada por colorimetría o por quimioluminiscencia. La ventaja de este producto es que es específico para ADN humano.

D) PCR en tiempo real

Cuando se genera un perfil genético normalmente los productos de la PCR son analizados al final de 28 a 34 ciclos. Sin embargo es posible monitorear la generación de productos de PCR como se van formando en tiempo real.

En la PCR a tiempo real, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior.

Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es

proporcional a la cantidad de ADN formado¹⁵. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación.

Los termocicladores para llevar a cabo la PCR a tiempo real incorporan un lector de fluorescencia y están diseñados para poder medir, en cualquier momento, la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realice la amplificación. Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR a tiempo real pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos, diseñadas.

Se han desarrollado ensayos que son altamente sensibles como el SYBR® y TaqMan®, además son específicos para ADN humano y el trabajo dentro del laboratorio no es muy intenso.

E) Sistema DNA IQTM

Este método se basa en el desplazamiento salino y la unión a sílice: una cantidad específica de sílice se agrega a la extracción y éstas se unen a una cantidad máxima de ADN, por lo tanto, cuando se eluye el ADN de las perlas de sílice la concentración máxima de ADN unido se conoce, la desventaja que tienen es que no es específica para ADN humano.

III.7 e) AMPLIFICACIÓN DE ADN

La amplificación consiste en hacer varias copias de un fragmento específico de ADN, el cual para su estudio requiere una cantidad adecuada que permita su detección. El método más utilizado para éste fin es la PCR (Polymerase chain reaction). Se amplifican varios fragmentos en paralelo para evitar agotar la muestra y conseguir un análisis más rápido (PCR multiplex).

¹⁵ Wormb-Schwark N, Simeon E, Bosch T, Schwark T. A new multiplex- PCR comprising autosomal and Y-specific STRs and mitochondrial DNA to analyze highly degraded material. *Forensic science international: Genetics* 2009; 3: 96-103.

III.7 ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS

ANÁLISIS DE VNTRs MEDIANTE RFLP

El método de análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción o RFLP («*Restriction Fragment Length Polymorphism*») se basa en la utilización de unas enzimas denominadas *enzimas de restricción o restrictasas* que cortan el ADN de forma específica en determinadas secuencias que han reconocido previamente. Las posibles diferencias en la secuencia del ADN entre dos individuos hacen que, para cada marcador, el tamaño de los fragmentos de ADN generados pueda ser distinto¹⁶

El análisis de estos polimorfismos mediante hibridación de sondas unilocus se realiza de la siguiente manera:

- Digestión con enzimas de restricción del ADN genómico. Los fragmentos de ADN generados se denominan Polimorfismos de Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP: restriction fragment length polymorphisms).
- Posterior separación de los fragmentos generados mediante electroforesis en geles de agarosa, y transferidos por técnicas de Southern- Blotting a membranas de nylon o nitrocelulosa.
- Hibridación con sondas uni-locus, mediante secuencias marcadas enzimáticamente y complementarias a las secuencias diana o secuencias blanco que se encuentran en los RFLP generados. La caracterización de una sonda Uni- Locus (sonda que reconoce un único locus, de situación cromosómica conocida, proporcionando un patrón compuesto por dos bandas como máximo), es un requisito imprescindible para su utilización en el campo forense, y debe indicarse la enzima de restricción utilizado, para el cual el locus es polimórfico.
- Análisis de los perfiles de ADN y estimación de frecuencias en SLP (single locus probe). Con el uso de sistemas de análisis de imagen determinamos el tamaño de los fragmentos obtenidos y asignamos sus frecuencias a partir de las bases de datos poblacionales establecidas.

Los polimorfismos VNTRs presentan una alta heterocigosidad (parámetro que viene definido por el número de individuos heterocigotos observados respecto al total analizado). Su gran heterocigosidad es una medida simple de la variación genética en una población, y es indicativo de la cuantía del polimorfismo y de la eficacia de cada marcador genético.

¹⁶ Eckert W. *Introduction to forensic sciences*. 2ª ed. USA: CRC Press; 1997.

La hibridación para la detección de las bandas se hacía con sondas *multilocus* en condiciones poco estrictas, lo que permitía la detección simultánea de varios loci que daba lugar a un patrón complejo de bandas, específico para cada individuo y al que tradicionalmente se ha denominado *huella genética*. Actualmente se han desarrollado sistemas que generan patrones más sencillos mediante hibridación con varias sondas *unilocus* y cuyos resultados son más fáciles de interpretar, manteniendo un alto poder de discriminación.

ANÁLISIS DE STRs MEDIANTE PCR

Muchas de las muestras biológicas de interés forense presentan poca cantidad de ADN o peor aún se encuentra muy degradada, por tal motivo no son susceptibles de ser analizados por RFLP. Para estos casos la mejor técnica es la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (*Polymerase Chain Reaction*), descubierta por Kary Mullis en 1985. Esta técnica ha sido una auténtica revolución en el mundo de la Biología Molecular, lo que le valió a su inventor el premio Nobel en 1993.

La PCR permite la amplificación de un fragmento de ADN específico a partir de una cantidad ínfima de ADN (de hasta picogramos) mediante una reacción enzimática cíclica.

Los componentes básicos de la mezcla de reacción de PCR son: el ADN molde extraído a partir de la muestra objeto de análisis, un par de oligonucleótidos o cebadores (pequeños fragmentos de ADN de cadena simple de secuencia complementaria a las regiones que flanquean al segmento de ADN de interés) que mediante su unión específica al ADN molde permiten iniciar la reacción, la polimerasa (enzima que cataliza la reacción), nucleótidos (que servirán de sustrato con los que sintetizar las nuevas cadenas de ADN), además del tampón y las sales necesarios ($MgCl_2$) para el óptimo funcionamiento de la enzima.¹⁷

La PCR amplifica regiones específicas de ADN molde, la cual ocurre en fases cíclicas y consta de tres etapas principales:

- a) Desnaturalización: mediante elevación de la temperatura a 94-95 °C las dos cadenas de la doble hélice de ADN molde se separan, quedando en forma de cadena simple.
- b) Hibridación: al disminuir la temperatura a 50-60 °C, los cebadores se unen al ADN molde justo en el lugar de sus secuencias complementarias (su pequeño tamaño favorece esta unión frente a la posibilidad de renaturalización o unión de la cadena complementaria de ADN molde).

¹⁷ Thompson T, Black S. *Human identification. An introduction*. USA: CRC Press; 2007.

Generalmente se utilizan dos cebadores diferentes, cada uno de ellos tiene la secuencia complementaria a una de las dos cadenas del ADN. Los cebadores se alinean con sus extremos 3' complementarios ya que hibridan a cadenas opuestas. La utilización de cebadores sintéticos significa que se debe tener alguna información de la secuencia de ADN a amplificar.

c) Extensión: el calentamiento a 72 °C (temperatura óptima de funcionamiento de la polimerasa), permite la extensión de la cadena de ADN a partir de los cebadores mediante la adición sucesiva de nucleótidos tomando como referencia la secuencia del ADN molde (figura 1.12).

Estos tres pasos se repiten cíclicamente entre 25 y 35 veces, de forma que el proceso total de la reacción dura aproximadamente 3 horas. En cada ciclo se produce un incremento exponencial en el número de copias, de forma que el resultado de la reacción de PCR es la obtención de una solución con millones de copias del segmento de ADN interesado.

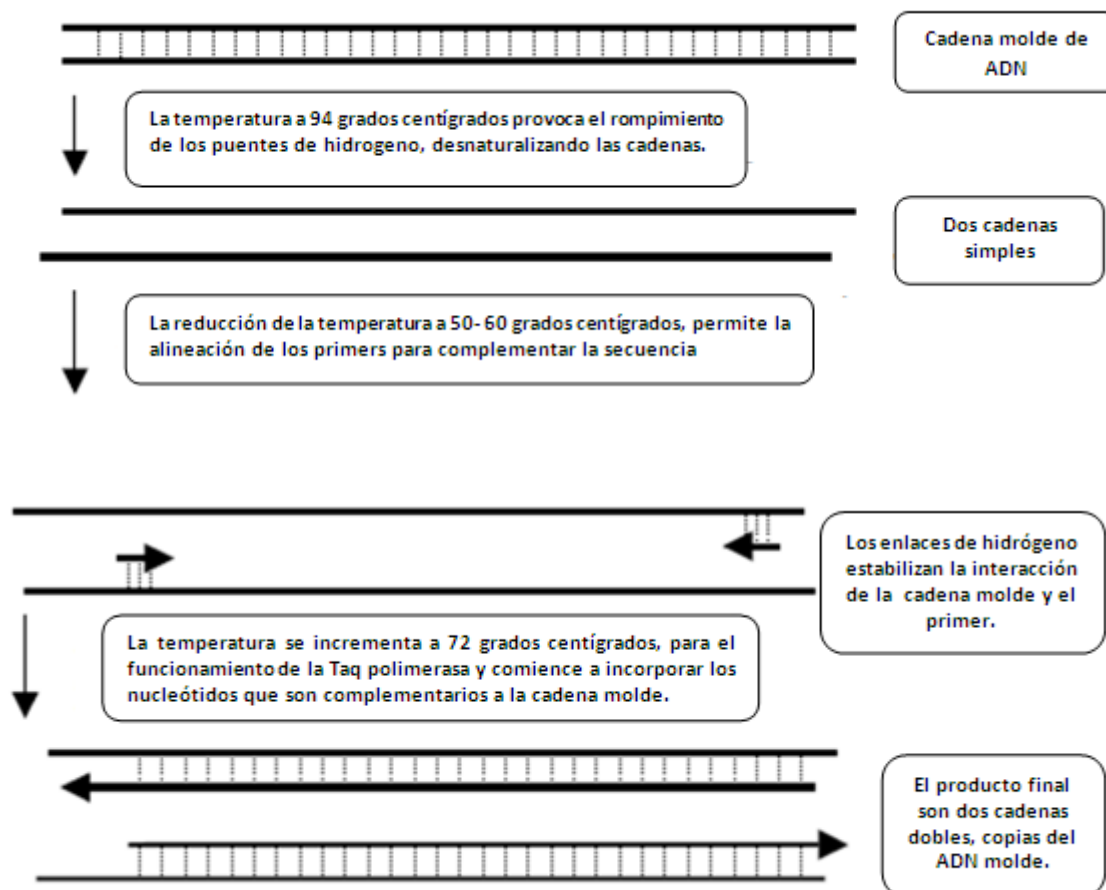


Figura 1.11 El proceso de PCR: cada ciclo consiste en tres fases: desnaturalización, alineación y extensión.

(Tomado de: Mc Clinton, 2008).

Como los productos sintetizados en un ciclo sirven de molde en el siguiente ciclo, el número de copias de ADN se dobla en cada ciclo. Así pues, después de 20 ciclos, la PCR rinde 2^{20} copias.

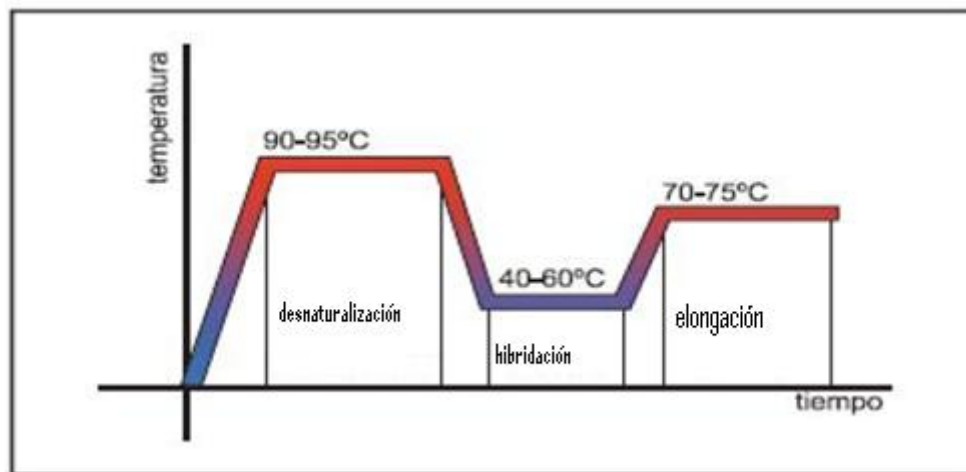


Figura. 1.12 Un ciclo de PCR.

La PCR se lleva a cabo en un *termociclador*, aparato que permite un rápido y preciso calentamiento y enfriamiento de las muestras y que admite numerosas variaciones de los programas de reacción para su ajuste al análisis interesado.

Este método se usa principalmente para el análisis de marcadores STRs (aunque también permite el análisis de VNTRs), que se basa en la determinación del tamaño en pares de bases de los fragmentos de ADN generados en la PCR, tamaño que vendrá definido por el número de repeticiones presentes en cada alelo. La separación de los fragmentos se lleva a cabo mediante electroforesis en gel o electroforesis capilar, muy extendida en la actualidad, y para la estimación del tamaño se usa un estándar interno de tamaño en cada muestra. Además, se requieren patrones alélicos de cada marcador que sirvan de referencia para la asignación de los alelos presentes en la muestra problema.

Para el análisis conjunto de varios marcadores genéticos mediante PCR ha sido necesario el establecimiento de reacciones de PCR *múltiple* que permiten amplificar simultáneamente varias regiones de ADN distintas mediante la adición a la mezcla de reacción de más de un par de cebadores. Ello ha supuesto un gran esfuerzo conjunto por parte de la comunidad científico-forense y de las casas comerciales para el desarrollo, puesta a punto y validación de kits de reacción de PCR optimizados para obtener el máximo rendimiento de la mínima cantidad de ADN, lo que se ha traducido en una disminución importante en la cantidad de ADN molde requerida, factor muy importante en muestras mínimas.

La gran sensibilidad de la PCR puede ser un inconveniente. Cualquier fragmento de ADN exógeno será amplificado si tiene secuencias que puedan ser reconocidos por los cebadores. Existen varias fuentes de contaminación:

- Contaminación de ADN humano procedente de las personas que manipulan la muestra.
- ADN bacteriano.
- Contaminación cruzada de las muestras.
- *Carry over* de productos de amplificación y ocurre cuando al ADN ya amplificado contamina una muestra que aun no ha sido amplificada.

La extracción y amplificación deben llevarse a cabo en campanas de flujo laminar, utilizando reactivos y material esterilizados. Es necesario incluir controles positivos y negativos en la amplificación, así como disponer de los perfiles genéticos de todo el personal del laboratorio para saber cuando haya una contaminación por parte del operario.

Existen muchísimos inhibidores de la Taq polimerasa por ejemplo algunos químicos que son utilizados durante la extracción, componentes de la sangre, polisacáridos, altas concentraciones de sales como el cloruro de magnesio, tintes textiles, etc. Los métodos actuales de extracción como el Quelex tienen por objeto remover la mayor cantidad de inhibidores y contaminantes. Cuando esto no es posible es factible agregar albumina de bovino (BSA) que previene y reduce la inhibición de la Taq polimerasa.

III.8 DETECCIÓN DE ADN AMPLIFICADO

III.8 a) Electroforesis

Para el análisis post-PCR hay que recordar que los alelos STRs se diferencian por el número de veces que se repite una secuencia, esto significa que el tamaño o longitud va a ser diferente de un alelo de otro. Para ver estas diferencias se emplea la electroforesis.

La electroforesis se basa en la capacidad de las macromoléculas cargadas para desplazarse en un campo eléctrico, con velocidad proporcional a su carga e inversamente proporcional a su tamaño. Las moléculas de ADN poseen a pH alcalino, una carga negativa debido a los grupos fosfato (PO_4^{3-}), lo cual permite que migre hacia el ánodo. Esto se puede realizar en geles de agarosa o poliacrilamida ambos geles forman una matriz porosa, los fragmentos más pequeños pasan más rápido y los grandes se retrasan o se quedan en el poro. Si hay muchos fragmentos de un tamaño similar se agrupan formando bandas en el gel.

Se someten a electroforesis muestras con fragmentos de tamaño conocido, también llamados marcadores de peso molecular o estándar de tamaño, y/o una mezcla de los diferentes alelos posibles para los STRs que se están analizando, y que se conoce como escalera alélica o ladder; con lo que resulta relativamente sencillo definir los alelos/genotipos y posteriormente el perfil genético de una persona. La electroforesis en una prueba de ADN se realiza de dos formas: 1) por geles verticales de poliacrilamida, técnica que ha caído francamente en desuso, y 2) electroforesis capilar, cuyo proceso es más preciso y automatizado, por lo que constituye el método de elección en los laboratorios de genética forense en el mundo. Finalmente, para observar el ADN amplificado (STRs) y sometido a electroforesis es necesario teñirlo; existen métodos tradicionales como la tinción con nitrato de plata de los geles de poliacrilamida, o más sofisticados que involucran la detección de fluorescencia añadida durante la PCR y que se detecta en sistemas automatizados de electroforesis capilar.

Para el uso de electroforesis capilar existen kits que permiten amplificar hasta 16 marcadores, 15 STRs y un marcador sexual llamado amelogenina. Los kits comerciales más empleados son AmpFISTR® Identifiler™ kit (Applied Biosystems, Foster City, CA), y el PowerPlex 16 (Promega Corp., Madison, CA). En ambos casos, durante la PCR los productos amplificados (STRs) se marcan con diferentes fluorocromos, formándose así grupos de STRs que fueron marcados con el mismo color, pero evitando que alelos de STRs diferentes se sobrelapen en tamaño.

Los amplificados deben someterse a electroforesis capilar, es decir, este proceso se hace a través de un tubo del tamaño de un capilar relleno de un polímero, donde bajo el mismo principio de separación por la carga y tamaño de la molécula, los amplificados se van separando al aplicar corriente eléctrica. Para este fin se usan analizadores genéticos, como el ABI-Prism 310 de Applied Biosystems, que de forma automatizada carga la muestra en el capilar para luego aplicar voltaje. De esta forma se separan los STRs hasta llegar a una ventana donde pasa un rayo laser que excita a los fluorocromos, que a su vez emiten fluorescencia detectada en una cámara CCD **charge-coupled device** que es un dispositivo de carga acoplada, la cual convierte esa luz en impulsos electrónicos que, con ayuda de un software, se representan gráficamente en un electroferograma¹⁸.

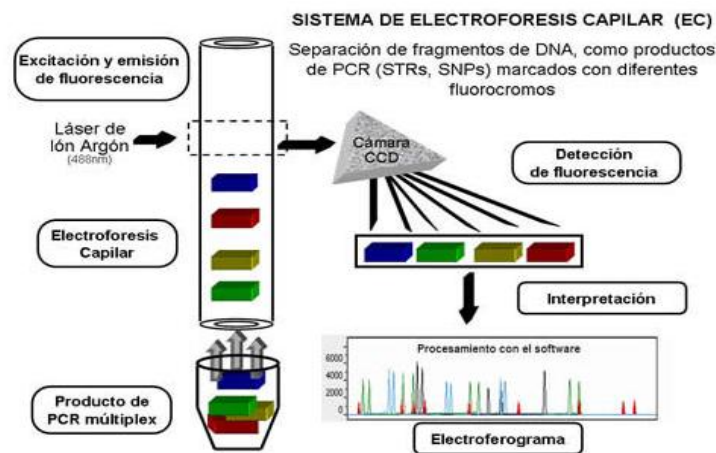


Figura 1.13 Representación de los pasos del análisis de fragmentos de ADN por electroforesis. (Tomado de: Petersen, 2001).

Cabe señalar que la longitud de onda de las diferentes fluorescencias se sobreponen, y la separación de colores se logra mediante el uso de valores que indican cuanto se sobreponen cada uno de los colores, a lo que se denomina matriz. Durante el análisis del electroferograma para definir el perfil de ADN es muy importante que simultáneamente se corra en la electroforesis una escalera alélica (ladder) con todos los alelos los STRs, lo que por comparación directa se facilita enormemente la asignación correcta de los alelos, genotipos, y finalmente perfil de ADN del individuo. Todo este proceso dura alrededor de 30 minutos por muestra, facilitando enormemente esta labor.

¹⁸ Petersen J, Mohammad A. *Clinical and forensic applications of capillary electrophoresis*. New Jersey: Humana Press Inc; 2001.

Una vez realizada la electroforesis capilar se observa el perfil de ADN de un individuo en un electroferograma, donde los picos de acuerdo a su color y posición nos indican los alelos (genotipo) que tiene la persona para cada STR. Si un individuo presenta uno o dos picos (alelos), indica que su genotipo es homocigoto o heterocigoto, respectivamente, para el STR en cuestión.

La compañía Applied Biosystems provee la mayoría de los sistemas más comúnmente usados para electroforesis capilar. El ABI PRISM® 310 es un analizador que tiene un sólo capilar y analiza hasta 48 muestras por día, el ABI PRISM 3100® y Applied Biosystems 3130xI Genetic Analyzers tienen 16 capilares y pueden analizar más de 1000 muestras por día, el ABI PRISM® 3700 y Applied Biosystems 3730xI Genetic Analyzers tienen 96 capilares y analiza más de 4000 muestras por día¹⁹.

III.8 b) Secuenciación

El método de Sanger para secuenciación de ADN es el más utilizado hoy en día y el proceso involucra la incorporación de polimerasa y trifosfato dideoxirribonucleótido. El método automatizado utiliza fluorescencia y se realizan cuatro mezclas de reacción cada una con un dinucleótido (dTTP) marcado con un fluorocromo distinto. Cada mezcla de reacción tiene cuatro nucleótidos trifosfato (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), ADN polimerasa I, un cebador marcado radiactivamente y un nucleótido dideoxi (ddATP) a una concentración baja.

El nucleótido dideoxi competirá con su homólogo (dATP) para incorporarse a la cadena de ADN que se está sintetizando, terminando la síntesis en el lugar donde se incorpora.

En cada reacción se forman moléculas de ADN de distintos tamaños y todas terminan en el mismo en el nucleótido y están marcadas en el extremo 5'. Los nucleótidos dideoxi son nucleótidos modificados que han perdido el grupo OH⁻ de la posición 3' de la desoxirribosa (figura 1.14). Estos nucleótidos pueden incorporarse a la cadena de ADN naciente y no se unen a ellos ningún otro nucleótido por lo cual se termina la reacción.

¹⁹ Ginny C, Parkes S. *Analytical molecular biology. Quality and validation. UK: Royal society of chemistry; 1999.*



Figura 1.14 Nucleótido didesoxi.

La detección de los fragmentos es de tipo fluorescente y corresponden a cada reacción que se lleva a cabo al mismo tiempo que la electroforesis, de manera que los fragmentos de ADN más pequeños que ya se detectaron salen del gel, permitiendo al sistema aumentar el número de nucleótidos que se pueden determinar en cada electroforesis y en cada secuenciación.

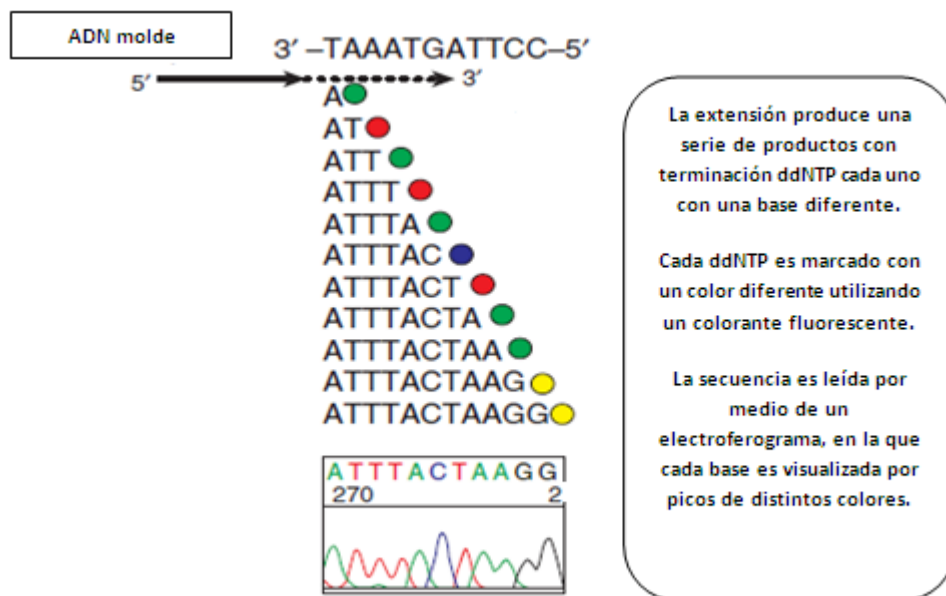


Figura 1.15 Método de secuenciación. Tras terminar la electroforesis se detectan bandas de colores que corresponden al nucleótido dideoxi 3' terminal de cada fragmento, se genera un registro de los cuatro perfiles de color que combinados se interpretan como una secuencia. La secuencia es leída como un pico de color en un electroferograma. (Tomado de: Wikipedia, 2012).

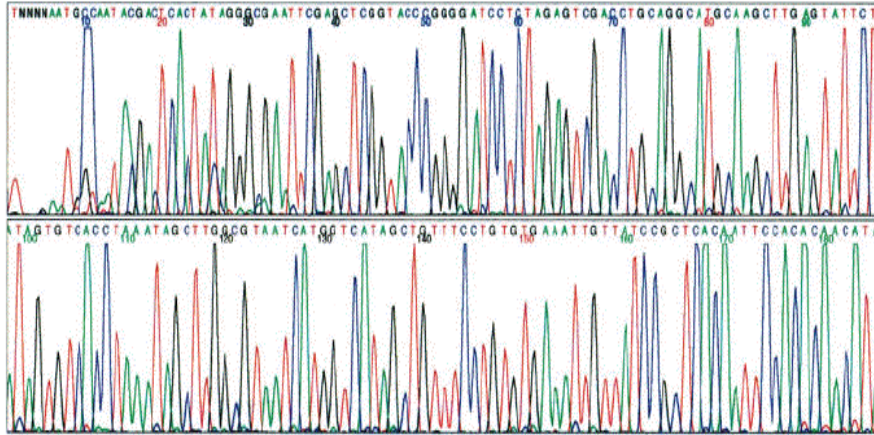
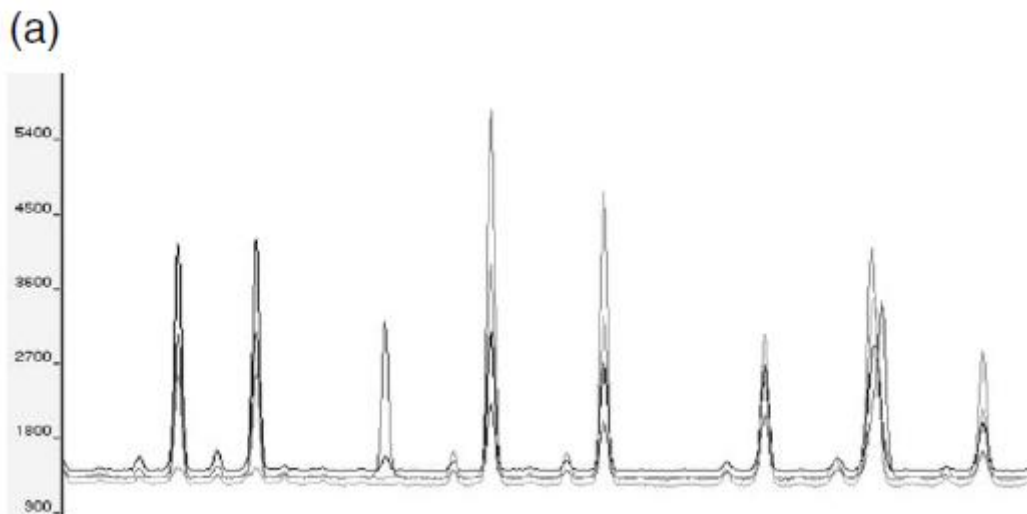


Figura 1.16 Secuencia obtenida por un método automático de secuenciación. (Tomado de: Wikipedia, 2012).

Los espectros de los colorantes usados para etiquetar los productos de PCR se superponen y los datos contienen picos que están compuestos de más de un color. Hay programas como el GeneScan® o GeneMapper™ *ID* que remueven el espectro que se superpone en el perfil y calcula el tamaño de los fragmentos amplificados de ADN (fig. 1.17). La altura de los picos se mide en unidades de fluorescencia y es proporcional a la cantidad de producto de PCR²⁰.



²⁰ Von Schantz M, Dale J. *From genes to genome. Concepts and applications of DNA technology*. UK: John Wiley and Sons; 2002.

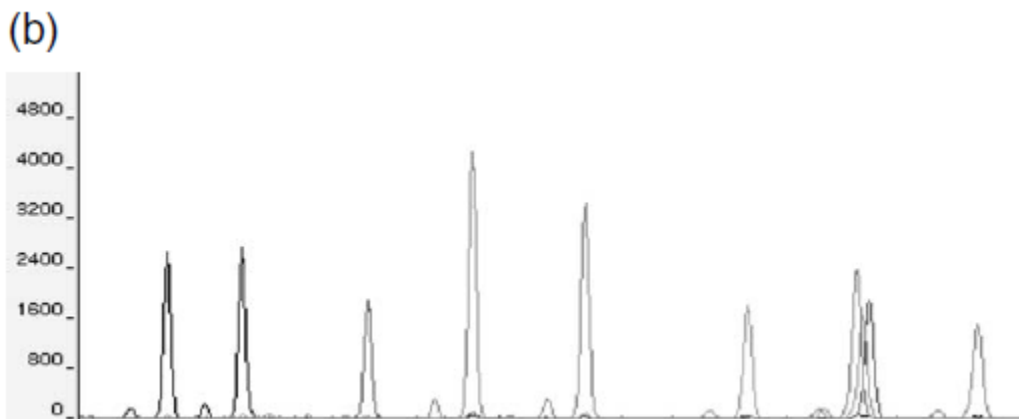


Figura 1.17 Los programas remueven el solapamiento de los espectros para producir picos dentro de un solo perfil y que pertenecen a un solo color. (Tomado de: Von Schantz, 2002).

Una vez que el locus de interés se encuentra amplificado por PCR puede visualizarse por técnicas de dot-blot o conocidas también como tiras genotípicas.

La visualización se lleva a cabo por medio de detectores coloridos que revelan sondas que se hibridan identificando el locus amplificado. A continuación se describen brevemente los equipos comercialmente disponibles y que son más utilizados en laboratorios forenses.

- Amplitype HLA-DQ α : está diseñado para identificación humana utilizando los sistemas estándares de PCR. Este equipo analiza el gen del antígeno leucocitario humano clase II (HLA-D α), el cual es altamente variable y se localiza en el cromosoma 6. El equipo contiene tiras genotípicas en la que se encuentran inmovilizados en membrana de nylon 6 sondas de los 6 alelos HLA-D α , las cuales pueden determinar 21 posibles genotipos. El poder de discriminación de este sistema es de 93%.

El amplitype HLA-DQ α se ha implementado en muchos laboratorios de criminalística como en el laboratorio de genética forense de la PGR.

- Amplitype polymarker: este es un equipo completo de amplificación de PCR y sistema de impresión desarrollado para la identificación humana. Se basa en el mismo principio que el Amplitype HLA-DQ α , el equipo amplifica 5 secuencias genéticas variables además del gen HLA-DQ α en una misma reacción de PCR. La adición de los 5 marcadores genéticos adicionales provee de máximo poder de discriminación sin incrementar la cantidad de ADN utilizado. Contiene tiras genotípicas que distingue cada locus. Los 5 loci amplificados son el receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR), la glicoforina A (GYPA), hemoglobina G gamma (HBGG), D7S8 y el componente grupo específico (GC).

El equipo de amplificación forense D1S80 (D1S80 Forensic DNA Amplification Reagent Set), es el primer equipo completo para los amplificadores de longitud polimórfica de loci D1S80. Este marcador tiene unidades repetidas de 16 pb, el cual ha sido localizado en el extremo distal del cromosoma 1p.

Este marcador tiene un poder de discriminación del 95 al 98 % dependiendo de la población considerada; posee 29 alelos conocidos que determinan 435 genotipos. Los alelos identificados se encuentran en un rango de 350 a 1000 pb de longitud. Los productos de PCR del D1S80 son separados mediante electroforesis en el gel de agarosa o gel de poliacrilamida.

Para identificar los tamaños de dichos productos se hace una comparación de los marcadores que poseen este equipo, los cuales tienen una longitud de 14,16,18,20,22,24,27,29,31,32,34,37, y 40 unidades repetidas de 16 pb; si alguno de los productos queda intermedio de un par de bandas de un marcador su longitud es considerada un intermedio entre estos dos, es decir, si una banda queda entre los marcadores 14 y 16, la muestra será considerada como el alelo 15.

El Geneprint STR Systems provee todos los materiales requeridos para amplificar regiones STR de ADN genómico purificado, no contiene DNA taqpol. Este equipo permite la amplificación simultánea en un mismo tubo de reacción de 3 loci polimórficos STR, los cuales no se sobrelapan en tamaño. Cada locus puede ser comparado con su respectivo marcador de tamaño por electroforesis.

Este equipo puede ser utilizado para la identificación de individuos en laboratorios donde se lleve a cabo pruebas de parentesco y ensayos forenses, también puede ser utilizada para autenticar líneas celulares.

III.9 ANÁLISIS DE LOS PERFILES GENÉTICOS OBTENIDOS

Una vez que se ha finalizado el estudio molecular se procede al análisis de resultados obtenidos. Se puede obtener dos soluciones:

1. Que se tengan muestras indubitadas²¹ (referencia) para poder cotejar las evidencias y el resultado pueden ser de dos tipos:

Coincidencia o compatibilidad: el perfil genético evidenciado en ambos tipos de muestras es coincidente en el caso de criminalística o compatible para el caso de paternidades. En este caso se debe valorar estadísticamente que la coincidencia no sea debida al azar.

El análisis depende a priori del número de marcadores utilizados y de la frecuencia de los alelos para cada marcador. Por esta razón los laboratorios analizan de rutina en cada muestra una batería de marcadores con alto poder de discriminación.

No coincidencia o incompatibilidad: el perfil genético de las muestras no coinciden. En estos casos no es necesaria una valoración estadística pues la exclusión se da con seguridad.

2. Cuando no existen muestras indubitadas para comparar.

Además de las bases de datos de perfiles anónimos obtenidos de evidencias, existen bases de perfiles de cadáveres no identificados y de familiares desaparecidos. Con estas bases de datos se pretende facilitar la identificación.

Cabe mencionar que las muestras dubitadas más frecuentemente analizadas son:

- Sangre (forma de mancha).
- Semen (lavados vaginales o manchas).
- Saliva (en distintos objetos o directamente tomada).
- Pelos (en distintos objetos, lugar de los hechos, etc.)
- Uñas.
- Tejidos blandos.
- Restos óseos y dientes (identificación de cadáveres).

²¹ Prieto S. *Aplicaciones forenses del ADN. Rev Estudios Jurídicos, 2004.*



Figura 1.18 Muestras dubitadas.

El análisis de una muestra forense consta de tres etapas principales:

- I. Pruebas preliminares para conocer la naturaleza de la muestra.
- II. Análisis del ADN presente en la muestra con fines identificativos.
- III. Análisis e interpretación de los resultados obtenidos.

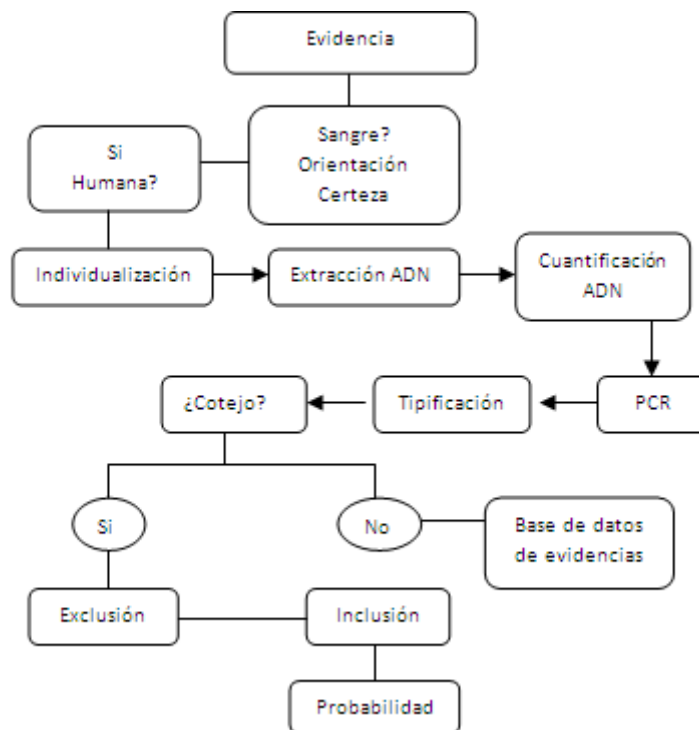


Figura 1.19 Etapas del análisis de una muestra forense.

III.10 IMPORTANCIA FORENSE DEL ADN

La importancia del ADN como medio probatorio resulta indudable, las miles de pares de bases que se encuentran en forma secuencial y que es única en cada persona y determinan la posibilidad de incluir a un individuo de varios de los que se conoce su secuencia, se ha convertido en un verdadero criterio para identificar personas.

Su utilización en el esclarecimiento de hechos delictivos ha supuesto una revolución en el ámbito de la biología forense y en la investigación de la autoría del delito. La genética forense que es una rama de las ciencias forenses que se encarga del reconocimiento de personas a fin de brindar apoyo en la procuración e impartición de justicia en:

- Casos de orden civil como: alegatos de maternidades y paternidades: dado que los polimorfismos del cromosoma **Y** sólo se heredan por vía paterna, sólo basta con disponer de la muestra del padre y del presunto hijo para comprobar si ambas muestras presentan idénticos polimorfismos **Y**. En caso de que no se tenga la muestra del presunto padre otros parientes como tíos paternos pueden ser analizados mediante marcadores del cromosoma **Y**.
- Casos tipificados en el código penal: delitos sexuales en mujeres y menores de edad, robos con violencia, secuestros, homicidios. Agresiones sexuales en las que el semen del sospechoso varón se encuentra mezclado con células de una víctima mujer: Los polimorfismos del cromosoma **Y** permiten una detección más sensible de la presencia de ADN de un individuo masculino aún cuando éste se encuentre inmerso en una gran cantidad de ADN femenino. Los individuos azoospermicos tienen ausencia de espermatozoides en el eyaculado o tienen una cantidad muy pequeña, pero es posible la detección de ADN de células epiteliales y leucocitos.

En las agresiones sexuales múltiples el análisis de microsatelites del cromosoma **Y** permite determinar el número mínimo de agresores.

- Eventos extraordinarios como siniestros: desastres naturales, incendios, ataques terroristas, accidentes. Cuando en una catástrofe aparece un gran número de cadáveres puede ser interesante clasificarlos según sus polimorfismos **Y** para poder discriminar qué cadáveres tendremos que cotejar con cada familia antes de realizar los estudios de ADN nuclear autosómico. Esto resulta muy útil cuando, por ejemplo, los familiares vivos que se usan como muestras de referencia son los hermanos de las víctimas.

Las evidencias biológicas que se analizan son variadas, destacando restos óseos, sangre, saliva, semen, órganos, tejidos, cabello, etc. Además, los remanentes biológicos que un acto criminal deja,

pueden a su vez, estar presentes en una vasta variedad de sustratos como son prendas, armas, vasos, botellas, cigarros, agujas, etc.

La importancia del análisis del ADN en el ámbito forense radica en su alto grado de fiabilidad incomparable al proporcionado por otras pruebas más clásicas como la presentación de testigos, reconocimientos, etc. Las muestras a las que se les puede efectuar un análisis de ADN son de fácil obtención y se requiere de poca cantidad.

La creación de bases de datos de perfiles de ADN para permitir confrontaciones más amplias de sospechosos. Sin duda las cuestiones de mayor proyección futura se agolpan bajo la posible creación de estas bases de datos con los análisis previos de ADN de distintos individuos de manera que encontrado un vestigio biológico en la escena del delito se pueda cotejar con el de las distintas personas que forman este archivo.

III.11 VALORACIÓN ESTADÍSTICA DE LA PRUEBA: TEOREMA DE BAYES

Para valorar correctamente la probabilidad de que una muestra provenga de un individuo, después de realizado el análisis de polimorfismos genéticos, es necesario recurrir al teorema de Bayes que sirve para conocer las probabilidades finales de un suceso a partir de las probabilidades iniciales, dada cierta información o informaciones adicionales obtenidas.

La importancia de la prueba en el ámbito forense reside por su grado de fiabilidad y la prueba es básicamente de naturaleza estadística.

El resultado de la comparación de perfiles genéticos puede ser la *exclusión* o la *inclusión*. Cuando el resultado de la comparación es la exclusión, dicho resultado en principio se puede aceptar como infalible, aunque en la práctica se aconseja repetir la prueba para verificar que no ha habido fallos o errores. Pero si el resultado fuera la inclusión o coincidencia, habrá que valorar aún esa coincidencia; más exactamente, habrá que valorar la probabilidad de que el vestigio analizado provenga de ese individuo, lo que dependerá del porcentaje de individuos de la población general que presentan ese perfil genético.

Imaginemos un proceso en el cual un individuo es acusado de haber cometido un determinado crimen, y existe una prueba científica involucrada en el caso. Es decir, se encuentra una mancha en la escena del crimen, y al analizar un polimorfismo de ADN en la misma se determina un grupo que posee el 1% de la población y que posee también el acusado.

Existen dos hipótesis posibles mutuamente excluyentes: **C**, el acusado ha cometido el crimen; e **I**, el acusado no ha cometido el crimen, lo que implica asumir automáticamente que algún otro lo hizo.

Habrá, en general, pruebas testificales o de otro tipo que afectan al grado de incertidumbre que sobre **C** ó **I** tiene el juez. Habitualmente con las pruebas presentadas, los testigos, entre otras, el juez tiene una idea sobre la culpabilidad o inocencia de ese individuo. Posiblemente no le sería complicado expresar ese grado de creencia en la culpabilidad o inocencia del acusado en forma de apuesta (5 a 1 a favor de su inocencia, 10 a 1 a favor de su culpabilidad, por ejemplo).

Para valorar, de forma objetiva, la prueba científica, el juez no tendría más que multiplicar –y aquí es donde el teorema de Bayes se aplica– su grado de creencia previo sobre la culpabilidad del acusado, expresado en forma de apuesta, por un factor que el perito debería proporcionar siempre al juez y

que se conoce como «likelihood ratio» (LR) y que se puede denominar «razón bayesiana de probabilidad», y que es²²:

$$\text{LR} = \frac{\text{Probabilidad del hallazgo científico dada la culpabilidad}}{\text{Probabilidad del hallazgo científico dada la inocencia}}$$

Expresado en forma matemática llamado **E** al hallazgo científico:

$$\text{LR} = P(E/C) / P(E/I)$$

Es de total importancia que el perito presente el resultado de la pericia en forma de esta proporción, pues identifica y circunscribe, además, su función: Mientras al juez le interesa saber cuál es la probabilidad de culpabilidad dada la prueba científica, al perito le conciernen preguntas como ¿cuál es la probabilidad del hallazgo científico dada la culpabilidad? y ¿cuál es la probabilidad de ese hallazgo dada la no culpabilidad?

Volviendo al caso de la mancha de sangre y el acusado en la que indicábamos que se había analizado un grupo de ADN que coincidía y que poseía el uno por ciento de la población, el perito debería razonar de la siguiente manera:

La probabilidad de que esa mancha provenga de ese individuo si **C** es verdad (es decir, si es ciertamente culpable) es 1 (100 por 100), el grupo encontrado es (19-29), es exactamente lo que ocurriría si el acusado hubiese dejado la mancha. Bajo la hipótesis de no culpabilidad **I**, entonces algún otro habría dejado la mancha. Puede que la defensa tuviese una explicación alternativa, pero si no es así, la probabilidad del hallazgo bajo la hipótesis C, es la misma que la de que un hombre al azar de la población poseyera ese fenotipo 19-29. Es decir 0.01 (1 por 100).

La razón de probabilidad (LR) es entonces 100 (1/0.01).

²² Carracedo A. *Valoración e interpretación de la prueba pericial sobre ADN ante los tribunales*. Santiago de Compostela. Universidad de Santiago de Chile. *Statistics and the Evaluation of Evidence for Forensic Scientists*. New York: Wiley; 1995.

Esto significa que la probabilidad de culpabilidad de ese individuo (en opinión del juez) expresada en forma de apuesta se habrá multiplicado por cien.

El juez no tendría más que multiplicar su grado de creencia a priori sobre la culpabilidad del acusado expresada en forma de apuesta para obtener una buena estima de la probabilidad a posteriori, expresada también en forma de apuesta.

Es decir, si el juez, por las otras pruebas que posee, considera que, el acusado, es inocente con muchas posibilidades (1000 a 1 a favor de la inocencia) después de la prueba de ADN, del caso anterior (LR=100) sigue ese acusado teniendo más posibilidades de ser inocente que culpable (10 a 1 en contra de su culpabilidad, o lo que es lo mismo, a favor de su inocencia) ($0.01 \times 100=1$). Si le parece que tiene tantas posibilidades de ser culpable como inocente, ahora podrá «apostar» de forma objetiva 100 contra a 1 a favor de su culpabilidad.

De ahí que el problema de la población de referencia es particularmente importante.

Cuando aplicamos la razón bayesiana de probabilidad estamos comparando la probabilidad de la prueba dada la culpabilidad respecto a la probabilidad de la prueba dada la inocencia. En este último caso es necesario utilizar una población de referencia. En efecto, en el ejemplo que hemos puesto, la probabilidad del hallazgo bajo la hipótesis I, es la misma que la de que un hombre al azar de la población poseyera ese fenotipo. Normalmente el perito escoge la población del entorno del caso, lo que habitualmente coincide con un grupo poblacional concreto. Si no existen datos de esa población, el perito debe utilizar datos de la población general más próxima.

La pericia de ADN, en caso de coincidencia entre la mancha y el acusado, puede tener un enorme valor, pero también este valor puede ser relativo. Para evaluarlo hay que acudir a las probabilidades, contempladas desde la perspectiva de dos hipótesis alternativas y expresadas como una proporción entre ambas. Es importante no caer en las llamadas falacias del fiscal y de la defensa y contemplar el valor de la prueba desde una perspectiva justa.

III.12 IMPORTANCIA DE LAS BASES DE DATOS DE ADN

En la actualidad existen dos posibles análisis genéticos comparativos perfiles genéticos obtenidos en el proceso penal. El primer nivel previsto legalmente es la comparación individual del perfil genético del indicio biológico con el perfil genético obtenido de una muestra del imputado sobre el que recaen los indicios de culpabilidad de una causa penal. El uso de perfiles de ADN estructurados en bases de datos de ADN con fines de investigación criminal para una comparación sistemática entre distintas causas penales es una estrategia que se ha convertido en una herramienta eficaz para reducir el índice de criminalidad de determinados delitos sin autor conocido y, especialmente, aquellos en los que existe una alta reincidencia. De esta forma la prueba del ADN deja de ser un mero testigo «a posteriori» de los hechos criminales para convertirse potencialmente en una herramienta preventiva de la criminalidad.

La mayoría de los países Europeos han desarrollado bases de datos de ADN con fines de investigación criminal, se tienen perfiles de ADN de anónimos obtenidos de vestigios biológicos de la escena del delito, y por otro lado, perfiles de ADN obtenido de individuos que son sospechosos o condenados (cuadro 2)²³. La búsqueda de coincidencias entre los distintos perfiles de ADN puede revelar la presencia de un mismo perfil en distintas escenas del delito, lo que permite relacionar distintos delitos con un mismo individuo.

²³ Mansilla M. *Bases de datos de ADN y derecho a la privacidad genética. Anales de la Academia Nacional de ciencias morales y políticas*; 2010.

Cuadro 2. Bases de datos para la investigación criminal en Europa.

Año de creación	País	Centro gestor
1995	Inglaterra	Forensic Science Service
1996	Irlanda del Norte	Forensic Science Agency of Northern Ireland
	Escocia	Police Forensic Science Laboratory, Dundee
1997	Holanda	Ministerie Van Justitie, Netherlands Forensic Institute
	Austria	Institute of Legal Medicine, University of Innsbruck
1998	Alemania	Bundeskriminalamt, Wiesbaden Landeskriminalamt
	Eslovenia	Ministry of the Interior, FSL
1999	Finlandia	National Bureau of Investigation, Crime Laboratory
	Noruega	Institute of Forensic Medicine, Rikshospitalet
2000	Dinamarca	Department of Forensic Genetics, Institute of Forensic Medicine -University of Copenhagen
	Suiza	
	Suecia	Institut de Police Scientifique et Criminologie, Lausanne
	Croacia	Ministry of the Interior, Republic of Croatia, Forensic Science
2001	Francia	Laboratoire De Police Scientifique & Gendarmerie Nationale
	Republica Checa	Institute of Criminalistics Prague
2002	Bélgica	Laboratory for Genetic Identification, National Institute of Criminalistics and Criminology
	Eslovaquia	Biology Department, Institute of Criminalistics
2003	Hungría	Department of Biological & Serological, Latvia Centre for Forensic Medicine
	Letonia	

El uso de la perfilación del ADN como una herramienta en las investigaciones criminales está bien establecido. Los avances de la técnica a través de la automatización y computarización permiten la investigación y examen de los escenarios de diversos delitos con la perfilación de diversas muestras biológicas humanas (sangre, saliva, piel, cabello, y otros tejidos) encontrados en estos.

La técnica de perfilación del ADN es usada para establecer la identidad verdadera de un individuo, vinculando a un sospechoso con la escena del crimen o con la víctima, vinculando delitos perpetrados por el mismo delincuente con la escena del crimen o con varias víctimas o exonerar a individuos inocentes de sospecha.

III.13 TIPOS DE BASES DE DATOS

A. Base de datos de ADN para la identificación de personas desaparecidas.

La utilización de bases de datos de ADN cobra una vital importancia en los procesos de identificación humana en conflictos bélicos o grandes catástrofes que afectan a un gran número de víctimas cuyo estado de conservación (fragmentación, carbonización, esqueletización,..) puede limitar o incluso imposibilitar la identificación de los cuerpos por los métodos forenses convencionales. En estos casos los perfiles genéticos obtenidos de los restos humanos, estructurados en un índice, pueden ser comparados de forma sistemática con un índice de perfiles de ADN obtenidos a partir de muestras de referencia (saliva o sangre) de familiares, o incluso con un índice de perfiles de ADN obtenidos de muestras ante-mortem de las víctimas (utensilios de aseo personal como cepillos de dientes, peines,...).

La complejidad de estas bases de datos dependerá de dos factores fundamentales:

1. Del estado de la muestra y, por tanto, de la posibilidad de obtener ADN nuclear para un análisis de marcadores STR o por el contrario solo poder obtener marcadores de ADN mitocondrial.
2. De la disponibilidad de los familiares de referencia adecuados. En general los estudios de marcadores STR autosómicos requieren familiares ascendentes o descendentes directos para que su poder de discriminación sea alto. Por otro lado, el ADN mitocondrial o los STRs del cromosoma Y permiten el análisis genético comparativo con otro tipo de familiares (que compartan la vía materna o paterna, respectivamente) pero el resultado final de identificación puede carecer de una significación estadística adecuada ya que el poder de discriminación de estos sistemas genéticos es menor de forma general que el que se obtiene mediante el análisis comparativo de marcadores STR autosómicos con familiares ascendentes o descendentes.

Uno de los esfuerzos más importante para la identificación genética de víctimas de guerra es el programa de identificación de ADN llevado a cabo por el International Commission on Missing Persons (ICMP) para la identificación de 30.000-40.000 víctimas de los recientes conflictos bélicos de la antigua Yugoslavia. El ICMP fue creado en 1996 tras el tratado de Dayton y siguiendo la recomendación del G-7 con el fin proceder a la identificación de las víctimas de los diferentes conflictos bélicos que tuvieron lugar en Bosnia Herzegovina, Croacia, Serbia, Montenegro y Kosovo.

Otro ejemplo de aplicación forense en la que la utilización de una base de datos de ADN se ha convertido en una herramienta fundamental ha sido en la identificación de las víctimas de los ataques terroristas del 11 de Septiembre de 2001 al *World Trade Center* de la ciudad de Nueva York en el que

se han analizado más de 26.000 restos humanos (incluyendo 13.000 restos óseos) correspondientes a más de 2700 víctimas y en el que se utilizó el programa MFISYs (*Mass Fatalyty incident System, desarrollado por GeneCodes Corporation*) para la búsqueda de coincidencias en una base de datos central que incluía perfiles de ADN (STR y de ADN mitocondrial) estructurados en los siguientes índices: Perfiles de ADN de los restos, perfiles de ADN de efectos personales de desaparecidos y perfiles de ADN de muestras de referencia de familiares.

B. Bases de datos poblacionales.

En el caso de los marcadores STRs autosómicos la mayoría de los laboratorios han desarrollado sus propias bases de datos mediante el estudio de una pequeña muestra poblacional representativa (siendo normalmente $N > 100$) para determinar las frecuencias alélicas de cada uno de los marcadores en la población de referencia. Esto es posible debido a que los marcadores STR utilizados se heredan de forma independiente y, por tanto, la frecuencia de un perfil multilocus es el producto de la multiplicación de la frecuencia genotípica obtenida para cada marcador.

El Grupo Español y Portugués de la Sociedad Internacional de Genética Forense (GEPISFG) que a través de su Grupo de Base de Datos de ADN Nuclear mantiene una página web (http://www.ertzaintza.net/adn_nuclear)²⁴ en la que se centralizan datos de las frecuencias alélicas de los marcadores de ADN nuclear autosómicos de diversas poblaciones Españolas, Portuguesas y Latino Americanas utilizadas en el campo de la genética forense.

Otro ejemplo de cooperación internacional es el desarrollo de una base de datos para los sistemas STR incluidos en el sistema SGM Plus en diversas poblaciones Europeas, llevado a cabo por el Grupo de Trabajo en ADN (*DNA Working Group*) de la Red Europea de Institutos Forenses (*European Network of Forensic Science Institutes; ENFSI*) y de libre acceso por internet (www.str-base.org). La página permite obtener el cálculo de la frecuencia de un perfil STR multilocus introduciendo los datos de tipaje alélico de la muestra problema a partir de distintas poblaciones Europeas.

²⁴ Guillen M, Carracedo A, Pestoni C. Bases de datos de ADN con fines de investigación penal. *Especial referencia la derecho comparado. Rev. Derecho y genoma humano* 1998; 8:137-158.

III.14 CODIS (Sistema Combinado de Índice de ADN)

El CODIS es una base de datos de ADN de Estados Unidos y pertenece al FBI y se creó en 1994, está conformado por trece marcadores: D3S1358, D16S539, TH01, TPOX, CSF1PO, D7S820, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, and D13S317.

El CODIS tiene más de 6.5 millones de perfiles de STRs y se enlaza con 50 estados de los Estados Unidos con la capacidad de buscar algún perfil. Las bases de datos son útiles en la mayoría de los delitos que se cometen por un delincuente en repetidas ocasiones.

III.15 LEGISLACIÓN DE LAS BASES DE DATOS

La prueba de ADN utilizada como método de identificación en el ámbito forense se ha vuelto imprescindible tanto en el ámbito del procedimiento penal como en materia de filiación. Los avances de la tecnología y el descubrimiento de los marcadores genéticos que pueden ser utilizados hicieron posible la realización de bases de datos con fines de investigación criminal, sin embargo, esto puede conllevar a una problemática jurídica.

La realización de la prueba de ADN para este fin puede generar varios tipos de archivos con diferentes tipos de material, tenemos archivos formados por vestigios que son encontrados en la escena del crimen, muestras que son extraídas de los indicios y los resultados de los análisis a los que fueron sometidas dichas muestras que conforman la base de datos. Este tipo de información podría llegar a manipularse de forma inadecuada por ejemplo que la información y las muestras no se destruyan después de cierto periodo de tiempo o después de la resolución definitiva del caso (Recomendación del Consejo de Europa sobre la utilización del análisis del ADN dentro del marco de la Administración de Justicia Penal).

Existen tres grupos de legislaciones al respecto:

- Sistema basado en un análisis de la población y conservación de los análisis de todos los vestigios encontrados en la escena del crimen.
- Sistema basado únicamente en la toma de muestras para un catálogo determinado de delitos y el archivo de las mismas.
- Sistema basado únicamente en la utilización del análisis genético para un caso concreto, y procedente de un individuo al que se conozca un determinado grado de vinculación con el delito cuya investigación se esté llevando a cabo y comparación con los vestigios que en esa concreta investigación hayan sido recogidos.

La diferencia entre estos sistemas versa principalmente en la obligatoriedad de la toma de muestra, el grado de vinculación del individuo con el delito y la necesidad de una resolución judicial.

Criterios para la regulación de una base de datos.

Para la posible delimitación de una base de datos se deben adoptar una serie de criterios en las siguientes materias de acuerdo a la ley orgánica 15/03²⁵:

- Tipos de delitos para los que se puede utilizar una base de datos de ADN. Delimitación objetiva.
- Personas cuyo análisis puede ser incluido en una base de datos. Delimitación subjetiva.
- Tipos de muestra: indubitadas que son de procedencia conocida y dubitadas de procedencia desconocida.
- Tiempos de custodias de datos y muestras.
- Modelo de funcionamiento de una base de datos.

Delimitación objetiva

Al realizar esta delimitación se debe de establecer en qué casos se realizará el análisis de ADN con fines de investigación criminal y en qué casos dichos análisis podrán conformar una base de datos. Se recomienda tomar en cuenta las siguientes variables o criterios que justifican el ingreso a una base de datos:

- *La gravedad del delito.*
- *Grado de reincidencia.*

La base de datos justifica su realización únicamente en cuanto el autor de un delito pueda volver a incurrir en una conducta similar, o si puede estar, y por tanto si estuvo implicado en alguna ocasión en un hecho delictivo, y se procedió al análisis de su ADN y el perfil resultante pasó a formar parte del archivo.

- *Hallazgo frecuente de vestigios biológicos.*

Para que una base de datos de ADN sea eficaz es que se conforme sobre hechos delictivos en los que sea probable encontrar vestigios biológicos susceptibles de análisis.

²⁵ Moreno J. *ADN y proceso penal: análisis de la reforma operada por la ley orgánica 15/2003*. Rev. Estudios jurídicos; 2005.

Delimitación subjetiva

Se propone en base a estos criterios que se incorporen en la base de datos los perfiles de ADN con o sin el consentimiento del afectado en los siguientes supuestos:

- *Condenados por sentencia*

En este caso se llevarán a cabo los análisis para determinar el perfil del ADN de los condenados, aún cuando en el curso de la instrucción de la causa no se hubiera requerido dicho análisis. Es necesario plantear dicha posibilidad pues de otro modo el imputado que hubiere cometido delitos con anterioridad (por ejemplo una serie de delitos contra la libertad sexual) preferirá llegar a una conformidad en la condena por un delito en que su imputación no esté basada en pruebas biológicas y de este modo evitar el análisis y cotejo con posibles vestigios de delitos anteriormente cometidos; si se establece el archivo de los análisis de los condenados por una serie de delitos, estos análisis deberán practicarse sin excepción.

- *Imputados mediante resolución penal*

En el curso de una Instrucción por alguno de los delitos que se contemplan para la formación de una base de datos, cuando para la investigación sea necesario el análisis de una muestra procedente del imputado, posible el cotejo del análisis realizado para ese concreto con los perfiles que figuran en la base previa autorización judicial.

Es decir, se podría en la investigación de un delito, solicitar la autorización judicial para que el análisis del sometido a la prueba de ADN en un caso concreto se coteje con el archivo correspondiente de los vestigios encontrados en distintas escenas delictivas. Ello no conlleva que este resultado pase a conformar el archivo antes de una sentencia condenatoria, pero sí que en caso de que una persona se encuentre imputada judicialmente por estos delitos pueda investigarse a través de la base de datos de ADN si participó en hechos similares.

- *Inclusión de personas que voluntariamente quisieran formar parte de la base de datos con fines de investigación penal.*

Hay que tener en cuenta que en un caso concreto un individuo sí puede solicitar que su perfil se coteje con los vestigios que conformen el archivo para comprobar si ha intervenido en algún hecho delictivo no esclarecido. Ello no implicaría que pasará a conformar parte de la base de datos y la muestra utilizada, una vez comprobada dicha «no intervención » debería ser destruida. Pero pasar a formar parte de una base de datos por propia voluntad sin estar

implicado en ningún procedimiento consideramos que conlleva más inconvenientes que beneficios.

En primer lugar un evidente coste económico y de gestión, si pensamos en una participación masiva de voluntarios que no tuviesen nada que ver con un procedimiento judicial.

El perfil del voluntario que sea ingresado a la base de datos se asemeja al de sus familiares y por tanto está proporcionando información, aún cuando sea meramente identificativa de sus consanguíneos que en absoluto deseaban en el legítimo ejercicio de su autodeterminación informativa formar parte de dicho archivo. Además hay que tener en cuenta que se quebranta el consentimiento informado, en el caso de los familiares puede no tener conocimiento de esa supuesta colaboración voluntaria del familiar y por tanto no tener conocimiento de que un perfil semejante al suyo forma parte de un archivo de ADN con fines de investigación criminal.

- *Víctimas*

Podría ser interesante llevar a cabo un archivo del perfil de ADN de las víctimas por posibles hallazgos de su propio perfil en el entorno de un posible sospechoso, perfil que puede no encontrarse en la investigación del mismo delito que se cometió contra aquella.

En caso de llegar a conformar un índice de víctimas, desde luego no se podrá utilizar para a su vez averiguar si pueden estar implicadas en la comisión de algún hecho delictivo sino únicamente para esclarecer el delito en el que se vieron involucradas como perjudicadas.

III.16 PROPUESTA TÉCNICA DE INICIATIVA DE LEY PARA LA BASE DE DATOS GENÉTICOS FORENSE EN MÉXICO.

En el siguiente capítulo entraremos en materia legal por lo que es muy importante resaltar que la información fue citada textualmente del documento para evitar alguna malinterpretación. En este capítulo se pretende responder cuestionamientos de profesionales que integran el área de impartición de justicia, esto es, la prueba de ADN para la identificación humana y lo más importante, el establecer una ley que rijan y regule el potencial de esta prueba para la impartición de justicia, sin menospreciar los derechos fundamentales de los individuos.

La iniciativa de ésta propuesta nació de los acuerdos de reuniones anuales de procuradores y directores de servicios periciales para la creación de una base nacional de datos genéticos forenses con un propósito de índole criminalístico para apoyar a órganos de la justicia.

En las propuestas técnicas de este proyecto de iniciativa de ley para la creación de la base nacional de datos genéticos forenses en México se considera lo que es el ADN desde el punto de vista forense y el significado de la perfilación de ADN.

Una base de datos es un depósito de perfiles genéticos de ADN generados de muestras biológicas, las cuales son almacenadas electrónicamente para su comparación con los perfiles generados de material encontrado en un escenario del delito o en otro lugar relacionado con el hecho, cuyo propósito principal sea vincular individuos con delitos no resueltos mediante la perfilación del ADN, exclusivamente para fines de identificación humana en el ámbito penal criminal.

Aun cuando existen ventajas y desventajas en cuanto a la posible violación de los derechos humanos fundamentales de los individuos, derecho a la intimidad, derecho a la integridad física, las opiniones vertidas pretenden equilibrar este conflicto de intereses y por tanto se recomienda para establecer los límites de la base de datos en su legislación y regulación la conformación de una comisión integrada por el Poder Judicial, Procuración de Justicia, Comisión de Derechos Humanos, expertos gubernamentales en ADN forense, expertos no gubernamentales pertenecientes a instituciones públicas (UNAM, IPN, UAM) con reconocimiento internacional en sistemas y especializados en bases de datos, expertos no gubernamentales pertenecientes a instituciones públicas con reconocimiento internacional en Bioestadística, que establezcan la confiabilidad de las pruebas realizadas en el territorio nacional conforme a los procedimientos técnicos y científicos establecidos por la comunidad científica de genética forense a nivel internacional, así como los procedimientos jurídicos y administrativos que rigen en el territorio nacional.

Por lo expuesto anteriormente los integrantes de la comisión deberán considerar que el propósito principal de la conformación de una base de datos es auxiliar en:

- a. Identificar la vinculación entre delitos en casos, tales como, manchas (cualquier fluido corporal) dejadas por los delincuentes en la escena del delito.
- b. La rápida exclusión en el ámbito de la investigación de sospechosos, cuyos perfiles ya están en la base de datos y no hay concordancia.
- c. Realizar “cold hits” (identificación inesperada) donde el perfil obtenido de una mancha concuerda con el perfil de un individuo en la base de datos y que no era sospechoso del delito.

Por lo tanto los perfiles que no son almacenados en la base de datos se consideran particularmente útiles como una herramienta de inteligencia policial que permiten la investigación de los casos y el combate actual y de futuros delitos, así como la identificación de delincuentes seriales de delitos en particular o relacionados con diferentes delitos.

Los puntos a considerar para la conformación de la base de datos son: quienes serán incluidos en la base de datos y establecimiento de sus límites , en la cual podrían incluirse los perfiles de imputados (a definir cuáles delitos), adolescentes infractores, acusados, sentenciados, justiciables y voluntarios (testigos y víctimas), en este rubro se recomienda que exista una autorización por escrito y se le haga saber que si lo requiere una investigación serán sometidos a búsqueda en la base de datos; el almacenamiento de las muestras; la seguridad y la custodia de las bases de datos.

Las consideraciones a tomar en cuenta por la comisión también deben incluir los derechos humanos fundamentales de los individuos en relación a la búsqueda del equilibrio con los intereses sociales, así como la prevención del delito y la protección de los derechos de otros (cuadro 3).

Cuadro 3. Conformación de bases de datos en países europeos.

País	Año de establecimiento	Criterio de inclusión (delitos)	Criterio de inclusión (Delincuentes)	Criterio de eliminación
Reino Unido	1995	Cualquier delito que amerite prisión	Registro como sospechoso	Nunca se eliminan
Nueva Zelanda	1996	Sin sospecha de registro	Delitos graves ≥ 7 años	Nunca se eliminan. A menos de sentencias nulas.
Austria	1997	Cualquier delito que amerite prisión	Registro como sospechoso	Solamente después de la absolución.
Países Bajos	1997	Sin sospecha de registro, excepto cuando por el caso de sospechoso sea analizado para ADN	Delitos que ameriten >4 años de prisión	20 a 30 años de la condena
Alemania	1998	Delitos que ameriten $>a$ un año de prisión	Después de la decisión de la corte	Después de la absolución o de 5 a 10 años después de la condena
Estados Unidos	1998	Sin sospecha de registro; bajo investigación	Depende de la ley de cada estado	Depende de la ley de cada estado
Finlandia	1999	Delitos que ameriten pena de $>$ de un año de prisión	Registro como sospechoso	Después de la absolución
Suecia	2000	Sin sospecha de registro	Delitos que ameriten $>$ mas de dos años de prisión	10 años después de la liberación de prisión
Suiza	2000	Cualquier delito que amerite prisión	Registro como sospechoso	Después de la absolución o de 5 a 30 años después de la sentencia
Francia	2001	Sin sospecha de registro	Delitos sexuales o delitos graves	40 años después de la sentencia

III.16 A) PROPÓSITO DE LA BASE NACIONAL DE DATOS GENÉTICOS FORENSES.

1. Establecimiento y finalidad para su legislación y regulación. Se recomienda que la base de datos deba estar indicada en términos precisos en la legislación primaria y que cualquier cambio en su propósito o alcance deba ser indicada en ésta.
2. Propósitos en la investigación criminal. La Base de datos debe ser utilizada en la investigación criminal o procesos penales para detección y prevención de delitos, los objetivos específicos para los cuales será usada deben ser detallados explícitamente en la legislación.
3. Identificación de cadáveres u occisos desconocidos. Las Base de datos deberá ser usada para identificación humana. Se recomienda que los perfiles genéticos obtenidos de occisos desconocidos sean confrontados con los registros de imputados, procesados o voluntarios, con el único propósito de identificación y no para otro, tal como determinación de paternidad. También se recomienda que los perfiles de occisos desconocidos sean confrontados con el registro de perfiles que se hayan obtenido de escenarios del delito o de los obtenidos del cuerpo de las víctimas, así como que exista una autorización del juez, cuando exista un motivo razonable de sospecha de que el occiso fue responsable del delito, a fin de tomar todas las previsiones que marca la ley respecto a la prescripción del delito.
4. Identificación de personas con lesiones severas. La Base de datos deberá ser usada para la identificación de aquellas personas gravemente lesionadas en calidad de desconocidos que se encuentren en hospitales públicos o privados y que no puedan proporcionar su identidad o puedan ser confrontados con los registros de imputados, procesados o voluntarios sólo para identificación.

III.16 b) ÁMBITO DE LAS BASES DE DATOS

Se recomienda establecer el ámbito o alcance de las bases de datos, cuyo aspecto central es que perfiles deben ser almacenados en dicha base: imputados, adolescentes infractores, justiciables y voluntarios. El alcance preciso de las bases de datos dependerá de la extensión y grado en el que las autoridades legislen para obtener la muestra biológica de un individuo y generar el perfil de ADN bajo un marco jurídico específico y claro.

1. Toma de muestra de ADN. Se deberá realizar por un experto autorizado para recabar muestras forenses en escenarios del delito o en otro lugar relacionado con el hecho, de los objetos o prendas aseguradas al propio imputado cuando los porte consigo, de aquella que es aportada por la parte ofendida o de fluidos biológicos tomados directamente del cuerpo del mismo imputado, víctimas o testigos y de restos anatómicos procedentes de cadáveres, manteniendo en todo momento la cadena de custodia, la cual se entiende como el conjunto de

etapas o eslabones desarrollados en forma legítima y científica durante la investigación judicial con el fin de:

- a. Evitar la alteración y/o destrucción de los indicios materiales o muestras biológicas de individuos al momento y después de su recopilación.
 - b. Dar garantía científica plena de que lo analizado en el laboratorio forense o presentado en el juicio es lo mismo que lo recabado o asegurado en el escenario del delito y en otro lugar relacionado con el hecho o recabados a individuos relacionados con el hecho. Para este fin la Procuraduría General de la República en conjunto con especialistas de las procuradurías estatales desarrollo un protocolo nacional para la toma de muestra, levantamiento de indicios, embalaje y traslado de indicios y muestras de referencia de origen biológico para la obtención de perfiles que serán incluidos en la Base Nacional de Datos Genéticos, y cuya finalidad es que sea aplicado por todo el perito que intervenga en el proceso (Septiembre 2008). El punto jurídico a definir es en qué casos se requerirá de consentimiento por escrito de la persona a quien se le toma la muestra y en qué casos no se requiere consentimiento y bastará sólo la orden de la autoridad competente. También se estima que la ley prevea una segunda toma de muestra si la primera que fue tomada a una persona para el análisis de ADN sea insuficiente, ya sea por pérdida, contaminación o destrucción total o parcial; es decir que en la legislación contemple la toma de adicional por razones técnicas y el medio en que se hará de conocimiento de la autoridad, así como el tiempo para informar que la muestra fue insuficiente.
2. Perfiles en la Base de datos. En este rubro se deben determinar el alcance exacto y el propósito de la base de datos y cuáles perfiles serán almacenados, así como las categorías de quienes se incluirán, además del tiempo que serán almacenados los perfiles, muestras y el periodo en el que serán sujetos de búsqueda (confronta) en la base de datos, así como de aquellos individuos que tengan la categoría de sospechosos y que en el curso de la investigación y posterior proceso no se les instruya sentencia. En estos casos se debe regular si los perfiles o muestras biológicas obtenidas se destruirán, así como determinar que individuos no estarán sujetos a la destrucción de perfiles en la base de datos y destrucción de la muestra biológica tomada de estos, basando en razones jurídicas el porqué se deberá retener el perfil en la base y no destruir la muestra, así como si un juez podría autorizar la retención del perfil y/o la muestra el tiempo que estime necesario.

Se sugiere que durante el proceso de consulta de la Comisión se explore si se incluirá una base de datos de ADN para personas desaparecidas que auxilie en el proceso de identificación, y que los perfiles de las personas desaparecidas se obtengan de ciertos objetos personales o de manera

indirecta a través de sus familiares biológicos cercanos y que también puedan ser confrontados con los registros almacenados de perfiles de imputados, convictos, voluntarios, restos humanos y personas seriamente lesionadas, solo con el propósito de identificación.

III.16 c) ALMACENAMIENTO, DESTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE MUESTRAS

La diferencia entre muestras biológicas y los perfiles derivados de éstas es un aspecto a considerar en cualquier debate relativo al almacenamiento de ADN en la base de datos.

Una muestra de ADN proviene de cualquier tipo de fluido y contiene toda la información genética de un individuo. Mientras que un perfil genético se deriva de cualquiera de esas muestra y se representa numéricamente en 16 regiones de secuencia repetitiva del ADN, las cuales no brindan mayor información que la identificación en 15 regiones porque es ADN basura o no codificante, por tanto el perfil de ADN contiene muy poca información genética personal pero muy útil para estudios de parentesco o relación.

Las bases de datos no deben ser confundidas con las muestras biológicas originales. La muestra es rica en información pero el perfil no lo es y por esta razón es importante considerar que el almacenamiento de perfiles de ADN es significativamente menor que el almacenamiento de muestras de ADN. La comisión deberá asentar en la ley el tiempo que deben almacenarse perfiles y muestras de acorde a los delitos y los mecanismos para su destrucción, con respecto a las muestras biológicas se deberá tomar en cuenta la Norma Oficial NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 para su destrucción.

- Muestras de los escenarios de delito. Se recomienda que todas las muestras biológicas o indicios que son encontrados en la escena del crimen deban ser almacenadas indefinidamente. Con el fin de salvaguardar a un individuo condenado por un delito, en el caso de que se alegue alguna duda respecto de la muestra relacionada, debe haber la posibilidad de realizar nuevamente la prueba y establecer su autenticidad y veracidad con la muestra original.
- Muestras a confrontar. Se recomienda que se disponga en la legislación la retención de las muestras a comparar bajo estrictas medidas de seguridad. Si por cualquier razón el perfil de ADN es removido de la base de datos y destruido, la muestra correspondiente de ADN también deberá ser destruida. Se somete a consideración de la Comisión que esta situación sea reexaminada para determinar el tiempo de retención de muestras y también de los perfiles generados a partir de éstas, basándose en que los métodos de perfilación sean correctos en cuanto la calidad, regulación y acreditación del laboratorio forense y de la custodia de las bases de datos.

Análisis permitidos de muestras biológicas. Se requiere analizar los propósitos permitidos de las muestras biológicas para lo cual éstas podrían ser usadas una vez que se han generado los perfiles de ADN.

- Muestras de los escenarios del delito. El análisis de las muestras biológicas recabadas en el lugar de los hechos deben estar limitadas con el propósito de investigación criminal y que el resultado del análisis deba guardarse bajo la mayor cautela y custodia. Sin embargo, hay que considerar si se permitirá el análisis de regiones codificantes para determinar información fenotípica no sensitiva, tal como el color de los ojos o piel que pudieran auxiliar en el curso de la investigación.
- Muestras a confrontar. Se recomienda a la Comisión que considere establecer que el análisis sea sólo de confronta entre la muestras levantadas de la escena del delito con respecto a las muestras a comparar, y los análisis científicos mas allá de la generación de un perfil se prohíba, como pudieran ser las pruebas que revelen desordenes genéticos, rasgos de personalidad, predisposiciones y rasgos conductuales.

III.16 d) CUSTODIA DE LAS BASES DE DATOS E INTERCAMBIO DE INFORMACIÓN

- Custodia de las bases de datos. La Comisión deberá considerar que la principal función de quienes custodien la base de datos es mantener la integridad de la base de datos de ADN. Los custodios deberán ser responsables de descargar los perfiles en la base de datos, llevar a cabo las búsquedas (confrontas) y hacer los reportes de concordancia (match). También tendrán la responsabilidad de asegurar técnicamente la seguridad de la base y su actualización.
- Seguridad de las bases de datos y de las muestras. La seguridad del almacenamiento de muestras de ADN y el procedimiento para la destrucción de perfiles de ADN y las muestras también deben considerarse. Se estima que las dependencias que cuenten con instalaciones de Genética forense puedan estar a cargo de la custodia de las bases de datos y las concordancias obtenidas y que éstas deban ser comunicadas mediante sistemas computarizados seguros, y considerar si los custodios de las bases de datos deban estar sujetos a una supervisión o auditoria de expertos en sistemas no gubernamentales pero pertenecientes a instituciones públicas con prestigio internacional que auxilien en la transparencia, certeza de resultados y seguridad del sistema. Se debe disponer en la legislación, medidas de seguridad para que las bases de datos y el almacenamiento de las muestras sean usadas solamente con los propósitos permitidos y establecidos.

III.16 e) EVIDENCIAS DE ADN Y CONTAMINACIÓN

- Competencia técnica de los laboratorios de genética forense. La Comisión deberá considerar los siguientes aspectos en la legislación con respecto a la competencia técnica de los laboratorios de genética forense, los cuales al ser responsables del manejo de las muestras, obtención y almacenamiento de perfiles en la base de datos, deben estar acreditados bajo la norma ISO 17025; considerando que hayan programas de acreditación útiles para el aseguramiento en el control de calidad y en el proceso en el análisis de ADN, involucrando el establecimiento e inspección de protocolos, tales como documentación, seguridad, metodología, equipamiento de laboratorio, calibración, manejo de evidencias, reportes de documentos, validación y capacitación. Se deberá establecer si los laboratorios serán sujetos a auditorías externas por un organismo o entidad no gubernamental. Será competencia de la Comisión marcar el tiempo en el que se deban acreditar los laboratorios deben regirse por protocolos establecidos. En este sentido la American Society of Crime Laboratory Directors/Laboratory Accreditation Board (ASCL/LAB) proporciona un programa de acreditación para que cualquier laboratorio forense pueda acreditar que el manejo, el personal operativo, los procedimientos técnicos e instalaciones cuentan con los estándares establecidos.
- Manejo de la escena del delito. Se sugiere que la Comisión considere quienes son las personas que llegarán primero al lugar de los hechos además de que cuenten con la capacitación basada en los principios básicos para los indicios como son su identificación, levantamiento, embalaje, preservación y transporte.
- Eliminación de los perfiles de ADN. Uno de los mayores de riesgos de contaminación de los indicios es durante el levantamiento de las muestras y durante su análisis y es debido al operador, por tal motivo es necesario tener una base de datos con los perfiles genéticos del personal que participa en estas actividades, a fin de identificar y eliminar estos perfiles que no son útiles.
- Intercambio de información nacional y la dimensión internacional. La Comisión deberá establecer en la ley las pautas que rijan la información a compartir con otras jurisdicciones, esto es, las restricciones en el intercambio de información, dado que el propósito es de inteligencia para la investigación, sin que infrinja la ley de cada estado. La Comisión debe tener en cuenta que el crimen es un tema internacional y se requiere de gran cooperación. En Junio del 2003 la INTERPOL estableció una base de datos de ADN internacional de perfiles obtenidos de las muestras de escenarios del delito y de muestras de referencia para uso de los Estados miembros. Los países miembros pueden adicionar los perfiles en sus

bases estatales y nacionales y comparar éstos con los miembros de los Estados participantes con la INTERPOL. Si se encuentra una concordancia de un perfil, el sistema alerta al Estado involucrado. El acceso a la base de datos de la INTERPOL es acordado con el Estado conforme a la legislación nacional, incluida en el Data Protection Acts. Los miembros participantes son responsables del mantenimiento de sus bases de datos, incluyendo la remoción regular de los perfiles. Los perfiles incluidos en la base de datos de la INTERPOL deben ser de criminales conocidos que operan internacionalmente o de manchas encontradas en la escena del crimen y que se sospeche que el delincuente podría ser de nacionalidad extranjera. Otra base de datos con la que se podría intercambiar información es la que opera el FBI, denominada CODIS (Sistema de Índice Combinado de ADN).

Conforme a lo expuesto la Comisión establecerá a través de los expertos en derecho lo concerniente al intercambio a nivel nacional e internacional (por ejemplo convenios en materia de extradición), estableciendo el marco jurídico apropiado sin que se infrinja la ley en México. Otro de los temas a consulta es asegurar un nivel adecuado de protección para la confidencialidad de los datos, considerando todas las circunstancias técnicas que existan alrededor de la transferencia.

Es importante que las bases de datos nacionales sean compatibles para alcanzar los objetivos planteados. Esto implica asegurar que todos usan los mismos marcadores para la creación de perfiles. En este sentido a nivel nacional, se tomo el acuerdo entre expertos en ADN de homogenizar y elegir 13 loci, los cuales están incluidos en la base de datos de Estados Unidos de América, denominada CODIS; en América Latina los países que cuentan con una base de datos son: Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Panamá, Puerto Rico y Uruguay.

III.16 f) EVIDENCIA DE ADN EN LOS JUICIOS

La evidencia del ADN puede ser usada en el proceso penal, en cualquiera de sus etapas, para establecer una relación entre la confronta del perfil obtenido de una mancha recabada de la escena del delito con la muestra tomada de un imputado o sentenciado que sugiera una concordancia de que cometió el delito o de que al menos estuvo en el lugar.

Durante el proceso penal dar el peso a la evidencia mediante el ofrecimiento estadístico de una probabilidad relativa a que la muestra encontrada en el escenario del delito podría haber provenido del sentenciado o cualquier otra persona de la población en general. De forma alternativa la defensa puede cuestionar la confiabilidad de la evidencia del ADN para establecer que la muestra encontrada en el lugar no pertenezca al sentenciado o a cualquier otra disputa presentada en el proceso penal.

La comisión debe estar consciente del hecho de que el trabajo forense es mejor cuando el resultado del trabajo realizado entre la policía y los expertos en ADN; en cualquier juicio la evidencia del ADN debe ser presentada de manera completamente comprensible, que exprese de manera clara el análisis estadístico utilizado, a fin de no generar la menor duda en el juzgado para decidir el valor probativo a esta prueba. Por esta razón se recomienda que la Comisión considere los siguientes puntos:

- Valor probatorio de una concordancia de ADN. Es importante enfatizar que hay una amplia aceptación en la comunidad científica en la fiabilidad de la ciencia del ADN como evidencia. No hay duda – teóricamente – de que la perfilación de ADN tiene la capacidad de auxiliar en la identificación humana. Los tribunales a nivel mundial han aceptado la exactitud y confiabilidad de la tecnología para el análisis de ADN y en general se admite como evidencia. Sin embargo dada su precisión y confiabilidad hay que evitar errores humanos que pudieran cometer analistas durante el análisis e interpretación, por tal razón es necesario que cada laboratorio cuente con procedimientos de control de calidad y aseguramiento de la calidad para garantizar que los perfiles ingresados a una base de datos sean una herramienta confiable y valiosa.
- Presentación de evidencia estadística. La Comisión deberá consultar con un grupo de expertos en bioestadística sobre la presentación estadística del match de ADN, la orientación debe ser presentada en forma de reglas para los tribunales o mediante un código de práctica en la presentación estadística del match, basándose en lo establecido por el US National Research Council (NCR) en sus dos publicaciones NCRI y NCRII (1992 y 1996 respectivamente), donde se explican los principios generales de la perfilación genética relacionada con los temas estadísticos de ADN forense y varias recomendaciones relacionadas con el uso adecuado de las herramientas estadísticas, las cuales son necesarias debido a que la perfilación genética es científicamente ambigua y altamente poderosa, cuando existe una concordancia los encargados de procurar justicia querrán conocer que tan probable es que haya un resultado al azar, hay probabilidad de que al realizar las interpretaciones se haya cometido un error.

Algunos problemas para las determinaciones de ciertos grados o parentescos y mezclas de ADN necesitaran un análisis estadístico complejo.

Para poder establecer el poder de discriminación del ADN perfilado es necesario contar con las frecuencias poblacionales de México de cada alelo, por lo que la PGR convocó la participación de todas las procuradurías estatales, con fin de conjuntar esfuerzos, acordándose la toma de muestra de individuos femeninos y masculinos para perfilarlos y

obtener la frecuencias poblacionales que servirán de base para el cálculo estadístico requerido en el Área forense del ADN.

- Preparación de la teoría del caso. Es menester que la Comisión tome en cuenta que en algunos casos la prueba de ADN no sería suficientemente confiable para admitirla como prueba, de aquí que es recomendable que antes del juicio, es decir, en la preparación del caso, se decida si la concordancia del ADN es suficientemente confiable para ser admitida en el juicio y evitar con ello conflictos en el testimonio del experto en ADN, acerca de la confiabilidad de esa evidencia en específico y simplificar y darle seriedad al juicio.
- Obtención de evidencia ilegal e inconstitucional. Se somete a consideración de la Comisión cuando una evidencia es obtenida ilegalmente pero que no se viole los derechos constitucionales del individuo, si el juez a cargo del juicio deberá autorizarla para determinar si es prudente admitirla como evidencia, bajo circunstancias extraordinarias.²⁶

²⁶ Orea R, Franco M, León R, Hernández M, Pelcastre J, Sánchez A. Propuesta técnica de iniciativa de ley para la base de datos genéticos forenses. Rev El Tribunal superior de justicia del Distrito Federal 2010, 7:11-33.

III.17 LEY REGULADORA DE LA BASE DE DATOS GENÉTICOS PARA EL ESTADO DE CHIHUAHUA

El Estado de Chihuahua fue el primer estado en el país que comenzó con esta iniciativa de ley, dado la gran cantidad de crímenes y delitos llevados a cabo en esa entidad. A continuación se presentan algunas generalidades citadas textualmente.

La ley fue publicada en el periódico oficial del estado el 1º de abril de 2009, la ley regula un sistema estatal de registros de ADN, el cual está constituido por las huellas genéticas determinados en una investigación penal, para determinación de parentesco, identificación de cadáveres, restos óseos o personas desaparecidas.

La obtención de la huella genética deberá ser realizada por profesionales y técnicos que se desempeñen en los laboratorios de genética forense de la Dirección de Servicios Periciales y Ciencias Forenses de la Fiscalía General del Estado de Chihuahua. La administración y custodia estará a cargo de de la Fiscalía General del Estado.

El sistema es estrictamente confidencial, la información solo podrá ser consultada por el Ministerio Público y tribunales del ámbito Penal y de lo Familiar. La Policía Estatal Unica podrá tener acceso de manera indirecta previa autorización del Ministerio Público y del Tribunal respectivo.²⁷

Bajo ningún supuesto, el Sistema podrá constituir fuente de discriminación, estigmatización, vulneración de la dignidad, intimidad, privacidad u honra de persona alguna.

El sistema está integrado por el registro de sentenciados, registros de imputados, registro de evidencias, registro de víctimas, desaparecidos y familiares, y registro para determinar parentesco biológico.

La presente ley está inscrita en el marco de lo dispuesta en la ley de transparencia y acceso a la información pública, sin embargo, en el aspecto de la protección de datos personales, ésta aplica de manera directa.

²⁷ Ley reguladora de la base de datos genéticos para el Estado de Chihuahua. Ley publicada en el Diario Oficial del Estado No. 26; 2009: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Estatal/Chihuahua/wo40457.pdf> [consulta 5 marzo 2012]

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar la importancia del uso de las bases de datos de información genética en el ámbito forense mediante la revisión bibliográfica del tema.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar los diferentes tipos de bases de datos de ADN.
- Analizar cuáles son las condiciones o causas por las que la información genética de un individuo es ingresada a una base de datos.
- Comparar las bases de datos existentes en otros países y las propuestas de iniciativa de ley en México.
- Conocer los marcadores genéticos analizados en el ámbito forense como: STRs, VNTRs, SNPs, amelogenina, cromosoma Y.
- Revisar la legislación en México para el uso de las bases de datos de ADN para conocer cuáles son los avances en materia legal de la prueba de ADN para la procuración e impartición de justicia.

V. MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una revisión bibliográfica a cerca del impacto que tiene el uso de bases de datos de ADN como una herramienta para la investigación criminal. Se comenzó con la búsqueda de información en fuentes secundarias como son: manuales, libros, y guías, consultados físicamente y de manera electrónica; artículos de revistas los cuales son de publicación reciente en revistas electrónicas. La selección de la información se realizó en base a la veracidad tanto de los artículos consultados como de las referencias bibliográficas, lo cual se logró cotejando la información entre cada uno de ellos.

La información se clasificó en: conceptos básicos y aplicaciones de la genética forense, importancia del uso de las bases de datos de ADN con fines legales y por ultimo legislación para el uso de las bases de datos de ADN.

Se realizó un análisis en el cual se discutirá la viabilidad de la legislación para la conformación de una base de datos en México que coadyuve a la procuración de justicia y si esto no tendría un lado negativo en cuanto a la protección de datos personales.

Se realizó un estudio descriptivo, analítico y retrospectivo.

VI. DISCUSIÓN

Uno de los más grandes avances de la ciencia actualmente ha sido el desarrollo de la biología molecular, en las diferentes ramas se han actualizado e implementado nuevos métodos de ensayos y técnicas analíticas ultrasensibles. La biología molecular no sólo se ha extendido al área médica, clínica o biológica si no también ha tenido gran desarrollo y auge en el área forense, surgiendo así la genética forense.

La genética forense es una especialidad de las ciencias forenses que se ocupa del estudio de los caracteres hereditarios y el análisis de polimorfismos o variabilidad genética humana aplicada a problemas de orden legal, la biomolécula más importante para ésta disciplina es por supuesto el ADN, éste contiene la información genética de un individuo; y con el perfilamiento genético podemos conocer por ejemplo: lazos filiales entre personas, diferenciar especies, saber si una persona tiene predisposición genética para adquirir alguna enfermedad o simplemente identificar a una persona.

Es por ello que la información que proporciona un perfil genético es de gran importancia para la genética forense en cuanto a la identificación de personas y para la resolución de crímenes.

Hoy por hoy la prueba de ADN se ha convertido en un método de identificación plena de un individuo en el ámbito forense y es una prueba imprescindible en materia de filiación.

Los avances en cuanto a tecnología en pruebas de ADN y el descubrimientos de polimorfismos en la molécula de ADN permitieron la posibilidad científica y técnica de realizar bases de datos con fines de investigación criminal, por lo que, esta prueba es ahora una herramienta eficaz en la impartición y procuración de justicia.

Dado la importancia de la información que proporciona una prueba de ADN sobre un individuo, es muy importante que si se pretende hacer una propuesta o iniciativa de ley, sea estudiada y analizada con cautela para que en ningún momento se llegue al quebranto de las garantías individuales, derechos humanos y al aseguramiento de datos e información personal.

El manejo de la información es susceptible por supuesto a malos manejos por ello es necesario establecer una comisión o institución encargada de controlar el intercambio de información; esta comisión o institución deberá estar facultada para regular, organizar y sistematizar la prueba de ADN para el servicio de procuración e impartición de justicia y con ello garantizar la estricta confidencialidad de la información, el derecho a la intimidad e integridad física.

Diversos países europeos ya han adoptado legislaciones a cerca de las bases de datos en materia legal. En nuestro país, Chihuahua ha sido el primer estado con una Ley reguladora de base de datos genéticos para el Estado de Chihuahua, que tiene por finalidad aportar una herramienta indispensable en la investigación de delitos, en materia forense y de derecho tanto penal como civil.

En base a los requerimientos que demanda el nuevo sistema de Justicia Penal en el estado, es necesaria la creación de un banco de datos genéticos de personas, a cargo de la Procuraduría General de Justicia del Estado; lo que implica la elaboración y mantenimiento de una base de datos con información referida al ADN, que desde luego es un mecanismo seguro, no sólo de identificación de personas sino también de cadáveres y de partes humanas.

Se pretende realizar una iniciativa de ley para la base de datos genéticos forenses en México, la iniciativa ha surgido de reuniones de procuradores y directores de servicios periciales; la propuesta tiene un propósito de índole cimnalístico y de apoyo a órganos de justicia, donde se almacenaran resultados de perfiles genéticos de perpetradores de cualquier delito, en los escenarios del delito, y de víctimas, para después realizar la confronta y relacionar y prevenir delitos.

En mayo de 2009 se presentó la Propuesta de Iniciativa de Ley en la Procuraduría de Justicia del Distrito Federal, para que las procuradurías estatales lo discutan y presenten ante las autoridades competentes.

Puede existir la duda de que tan viable es éste sistema de procuración de justicia en nuestro país, realmente el sistema está bien estructurado y tan viable es que en otros países e incluso en el Estado de Chihuahua está implementado, el inconveniente es que en nuestro país hay un alto grado de corrupción y se debe garantizar que la información de cada individuo está protegida y para tal objeto se debe contar con distintas instituciones gubernamentales y no gubernamentales, comisiones que velen por ese objetivo. Es de suma importancia que las autoridades analicen y valoren a que presuntos culpables o sospechosos se les tomará una muestra de ADN para ingresarla a una base de datos, recordemos que deberían ser inocentes hasta demostrar lo contrario; en el caso de las víctimas conocer perfectamente cuál es la causa por la que su perfil genético se ingresará a una base de datos y que estén en su derecho de permitir o no que su información genética sea almacenada en dicha base.

Lo anterior se ha mencionado ya que el manejo de información es un punto crítico en este tema, ¿qué pasaría si la información llega a manos de organizaciones que no cumplen con el objetivo de procurar e impartir justicia?

Un perfil genético contiene suficiente información de un individuo que si es mal manejada puede llegar a generar discriminación, por ejemplo: en grandes organizaciones empresariales, instituciones de salud, aseguradoras, escuelas; sólo por mencionar las más importantes.

No hay que perder de vista que la única finalidad de las bases de datos en México es obtener información que permita a las autoridades competentes identificar a presuntos sospechosos de un crimen o a una víctima de un delito, con el único objetivo de procurar e impartir justicia sin probabilidad de equivocaciones.

VII. CONCLUSIÓN

La prueba de ADN ha permitido identificar a criminales por el estudio de las escenas del crimen con el análisis de fluidos biológicos encontrados en dichos lugares.

La prueba de ADN no solo ayudara a capturar criminales y hacer más rápidos los procedimientos legales, sino también en la reapertura de casos de personas sentenciadas por crímenes que no cometieron.

Los análisis de ADN son altamente confiables pero no son infalibles.

Es de vital importancia que la sociedad civil conozca que existen nuevas herramientas para la impartición y procuración de justicia y que las autoridades competentes tienen la obligación de utilizarlas en pro de la justicia y que por otro lado la sociedad tiene el derecho de reclamar celeridad y efectividad en el proceso legal.

Se sugiere en una investigación futura revisar que es lo que se ha concretado con la propuesta técnica de iniciativa de ley para la base de datos genéticos forenses en México.

Se sugiere en una investigación futura revisar que es lo que se ha concretado con la propuesta técnica de iniciativa de ley para la base de datos genéticos forenses en México.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso A. Conceptos básicos de ADN forense [seriada en línea] Rev Estudios Jurídicos 2004: <http://www.slideshare.net/adnestelamartin/conceptos-basicos-deadnforense>
- Barbuin M, Fang R, O`Shea CE, Shewale JG, Furtado MR. A multiplexed system for quantification of human DNA and human male DNA and detection of PCR inhibitors in biological samples. *Forensic science international: Genetics supplement series 1* 2008: 13-15.
- Buckleton J, Triggs C. *Forensic DNA evidence interpretation*, New Zealand: CRC Press, 2005.
- Butler J. *Forensic DNA typing*. 2ª ed. USA: Elsevier, 2005.
- Butler J. *Fundamentals of forensic DNA typing*. USA: Elsevier; 2009.
- Bremer J. *Forensic science and illustrated dictionary*. USA: CRC Press; 2004.
- Carracedo A. *Method in molecular biology. Forensic DNA typing protocols*. New Jersey: humana Press Inc; 2005.
- Carracedo A. Valoración e interpretación de la prueba pericial sobre ADN ante los tribunales. Santiago de Compostela. Universidad de Santiago de Chile. *Statistics and the Evaluation of Evidence for Forensic Scientists*. New York: Wiley; 1995.
- Charlotte K, Lurkin O. *Genes to DNA and its applications*. USA: Columbia University Press: 2004.
- Choclán J. Pericia genética y proceso penal. *Rev Derecho y Genoma humano* 1998; 9: 59-90.
- Farfán M. introducción a la tecnología del ADN aplicada en el laboratorio forense [seriada en línea] Rev Estudios Jurídicos 2004: <http://es.scribb.com/doc/49422604/introducción-a-la-tecnologia-del-adn-aplicada-en-el-laboratorio-forense>
- Fung K, Hu Y. *Statical DNA forensics*. England: Wiley, 2008.
- García M. Bases de datos de ADN y derecho a la privacidad genética [seriada en línea] Instituto de Política Constitucional 2010: <http://www.ancmyp.org.ar/user/files/04GarciaMansilla.pdf> [consulta: 3 Marzo 2012]
- Gill and cols. Forensic applications of DNA fingerprints. *Nature* 1985, 318: 577-579.
- Gibbon V, Paximadis M, Strkalj G, Ruff P, Penny C. Novel methods of molecular sex identification from skeletal tissue using the amelogenin gene. *Forensic science international: Genetics* 2009; 3:74-79
- Ginny C, Parkes S. *Analytical molecular biology. Quality and validation*. UK:Royal Society of Chemistry 1999.
- Goodwin W. *An introduction to forensic genetics*. England: J. Wiley and Sons, 2007.

- Guillen M, Pestoni C, Carracedo A. Base de datos de ADN con fines de investigación criminal: aspectos técnicos y problemas ético-legales. *Rev Derecho y genoma humano* 1998, 9:137-158.
- Guillen M, Carracedo A, Pestoni C. Bases de datos de ADN con fines de investigación penal. Especial referencia al derecho comparado. *Rev Derecho y Genoma humano* 1998; 8: 137-158.
- Hansson O, Albinson L. Automatic data processing of reference DNA- profiles from FTA and non FTA samples. *Forensic Science International: Genetics supplement series 1* 2008: 29-31
- Koblinsky L, Levine L. forensic DNA analysis. USA: Chelsea House, 2007.
- Klug W. Conceptos de genética 5ª ed. Madrid: Prentice Hall; 1999.
- Kwok P. Single nucleotide polymorphisms. *Methods and protocols*. USA: Humana Press; 2003
- Ley reguladora de la base de datos genéticos para el Estado de Chihuahua. Ley publicada en el Diario Oficial del estado No. 26; 2009:
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Estatal/Chihuahua/wo40457.pdf> [consulta 5 marzo 2012]
- Legorreta M, Machuca C, Retana R, Roldan E, Rodríguez J, Molina M. Manual de practicas para el laboratorio de genética clínica parte 1. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM 2007.
- Manual de INTERPOL sobre el intercambio y la utilización de datos relativos al ADN. Recomendaciones de grupo de expertos en ADN de INTERPOL. 2ª ed, 2009.
- Mansilla M. Bases de datos de ADN y derecho a la privacidad genética. *Anales de la Academia Nacional de Ciencias Morales y Políticas* 2010.
- Martin-Casallo J. Tratamiento automatizado de las bases de datos de ADN [seriada en línea] Régimen legal. *Rev estudios Jurídicos* 2004:
<http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/fiscales/FISCAL34.pdf> [consulta: 13 febrero 2012]
- Mc Clintok J. Forensic DNA analysis. USA: CRC Press; 2008.
- Moreno J. AND y proceso penal: análisis de la reforma operada por la Ley Orgánica 15/2003 [seriada en línea]. *Rev Estudios Jurídicos* 2005:
<http://www.cej.justicia.es/pdf/publicaciones/fiscales/FISCAL33.pdf> [consulta 13 febrero 2012]
- Mozayani A, Noziglia C. the forensic laboratory. *Handbook procedures and practice*. New Jersey: Humana Press, 2006.
- Orea R, Franco M, León R, Hernández M, Pelcastre J, Sánchez a. Propuesta técnica de iniciativa de ley para la base de datos genéticos forenses. *Rev El Tribunal superior de justicia del Distrito Federal* 2010, 7:11-33.

- Petersen J, Mohammad A. Clinical and forensic applications of capillary electrophoresis. New Jersey: Humana Press Inc; 2001
- Prieto S. Aplicaciones forenses del ADN [seriada en línea] Rev Estudios Jurídicos 2004: <http://es.scribb.com/doc/68008649/aplicaciones-del-adn-forense> [consulta: 14 febrero 2012]
- Rapley R, Whitehouse D. Molecular forensics. England :Wiley; 2007.
- Thompson T, Black S. Human identification. An introduction. USA:CRC Press; 2007.
- Velarde J, Molina C, Rendon H. Identificación del sexo mediante análisis molecular del gen de la amelogenina. Rev Medigraphic 2007.
- Von Schantz M, Dale J. from genes to genoma. Concepts and applications of DNA technology. UK: Jonh Wiley Sons; 2002.
- Woodwin W, Linacre A. An introduction to forensic genetics. England: Wiley; 2007.
- Worm-Schwark N, Preusse-Prange A, Henrich A, Simeon E, Bosch T, Schwark T. A new multiplex-PCR comprising autosomal and Y-specific STRs and mitochondrial DNA to analyze highly degraded material. Forensic science international: genetics 2009;3:96-103.
- Yount L. Forensic science. From fibers to fingerprints. USA: Chelsea house; 2007.
- Yunis E. El ADN en la identificación humana. Bogotá: Temis: 2002.

IX. GLOSARIO

ADN mitocondrial: ADN circular que se encuentra en el interior de las mitocondrias, orgánulo celular responsable de la obtención de energía, en un número de copias que oscila entre 1000 y 10000 y cuyo tamaño es de 16 569 pares de bases.

ADN molde: ADN del que se pretende obtener múltiples copias de un determinado segmento y que, en una reacción de PCR, la polimerasa usa como referencia para la síntesis de las nuevas cadenas de ADN.

ADN nuclear: ADN que se encuentra en el interior del núcleo celular formando parte de los cromosomas y que está presente en todas las células humanas, excepto en los eritrocitos que carecen de núcleo.

Alelo: cada una de las variantes que pueden estar presentes en un locus determinado.

Autosomas: cualquier cromosoma diferente a los cromosomas sexuales X e Y. Las células somáticas humanas presentan 22 pares de autosomas (44 en total).

Cariotipo: ordenamiento de la constitución cromosómica de un individuo basado en su número y morfología. En el caso de los humanos es 46 XX en el sexo femenino y 46 XY en el sexo masculino.

Cebador o primer: fragmento corto de ADN de cadena simple ligado a la cadena de ADN complementaria permite a la polimerasa extender una nueva cadena de ADN para producir una molécula doble. En una reacción de PCR, se usa un par de cebadores que flaqueen un segmento determinado de ADN para obtener numerosas copias de dicho segmento.

CODIS: siglas de “Combined DNA Index System”. Conjunto de 13 marcadores STR para obtener un perfil genético.

Cromatina: material del que están compuestos los cromosomas (ADN y proteínas).

Cromosoma: estructura muy compacta que está constituida por ADN y proteínas. En una célula somática existen 46 cromosomas (23 pares) mientras que en los gametos hay 23 cromosomas.

Delección: mutación que consiste en la pérdida de un fragmento de ADN.

Desnaturalización: separación de las dos cadenas complementarias de una molécula de ADN mediante elevación de la temperatura o exposición a agentes químicos como formamida o urea.

Diploide: estado en el que una célula posee doble dotación cromosómica, formada por parejas de cromosomas homólogos. Las células somáticas humanas son diploides.

Electroforesis: técnica que permite la separación de moléculas de distinto tamaño cargadas en una matriz mediante la aplicación de un campo eléctrico.

Enzima de restricción: enzima que funciona como una tijera molecular cortando el ADN de forma específica en determinada secuencia que ha reconocido previamente.

Gen: segmento de ADN que contiene la información necesaria para la síntesis de una proteína o de un ARN. El número total de genes en el genoma humano se estima en unos 30 000.

Genoma: contenido total de ADN en una célula. El genoma humano tiene un tamaño aproximado de 3000 millones de pares de bases.

Genotipo: combinación alélica en un locus determinado.

Haploide: estado en el que una célula posee una única dotación cromosómica. Los gametos (ovulo y espermatozoide) son haploides.

Haplotipo: combinación de genotipos de diferentes loci que se heredan en bloque. Se habla del haplotipo cuando nos referimos a regiones de ADN o cromosomas que no están sujetos a recombinación, como el cromosoma Y (de herencia paterno) o el ADN mitocondrial (de herencia materna).

Heterocigosidad: proporción de individuos heterocigotos para un gen o un marcador genético. Este parámetro proporciona una idea de lo polimórfico que puede ser un gen o un marcador genético.

Heterocigoto: individuo que para un locus determinado presenta en el cromosoma paterno un alelo distinto al presente en el cromosoma materno.

Heteroplasmia: fenómeno por el que en un mismo individuo pueden coexistir moléculas de ADN mitocondrial que presentan alguna diferencia puntual entre ellas.

Hibridación: proceso por el que las dos cadenas de ADN complementarias permanecen unidas.

Homocigotos: individuo que para un locus determinado presenta en ambos cromosomas homólogos el mismo alelo.

Huella genética: patrón de bandas resultante de un análisis de RFLP y que es característico de cada individuo.

Locus/loci: posición que ocupa una determinada secuencia de ADN en el cromosoma.

Marcador genético: segmento de ADN con una ubicación física identificable en un cromosoma.

Meiosis: proceso de división de una célula diploide por el que, tras dos divisiones consecutivas, resultan cuatro células hijas haploides, es decir, cada una de ellas posee un único miembro de cada par de cromosomas homólogos, Es característico de gametogénesis.

Mitosis: proceso de división celular cuyo resultado son dos células hijas genéticamente idénticas entre ellas y, a su vez, a la célula madre. Se da en las células somáticas humanas.

Mutación: cambio o alteración estructural en el ADN que puede consistir en la sustitución de una base por otra o en la delección, inserción, o traslocación de un fragmento de ADN.

Nucleótido: unidad química de la molécula de ADN de cadena simple constituida por un azúcar, un fosfato y una base nitrogenada que puede ser: A (adenina), C (citosina), G (guanina) o T (timina).

Oligonucleótido: pequeño fragmento de ADN de cadena simple compuesto por varias decenas de nucleótidos.

pb Pares de bases.

Perfil genético: combinación de los genotipos obtenidos para múltiples loci.

Polimorfismo: variación en el ADN entre individuos de una misma especie. Se dice que un locus es polimórfico cuando la variabilidad afecta a más de un 1% de la población.

Renaturalización: proceso por el que las dos cadenas complementarias de una molécula de ADN desnaturalizada vuelven a asociarse al retirar la exposición al agente desnaturalizante.

Secuenciación: determinación del orden de las bases de una molécula o fragmento de ADN.

Sonda: fragmento de ADN de cadena simple marcado por un isótopo radiactivo o un agente quimioluminiscente, que se utiliza para detectar la presencia de secuencias de ADN complementarias

Termociclador: aparato en el que se lleva a cabo la reacción en cadena de la polimerasa y que permite un rápido y preciso calentamiento y enfriamiento de las muestras para que la PCR se realice de forma óptima.