



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

TESINA PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**EXÁMENES DE LABORATORIO EN CASOS
DE VIOLACIÓN SEXUAL**

Presenta:
Maricela Zamudio Solorio

Asesor: **Mtra. Leonor Aguilar Santelises**



Ciudad de México, Febrero 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	8
LOS INDICIOS BIOLÓGICOS.....	10
MARCO TEÓRICO.....	13
1. PRECAUCIONES GENERALES DURANTE LA RECOGIDA Y ENVIO DE MUESTRAS.....	14
2. TOMA DE INDICIOS BIOLÓGICOS EN EL LUGAR DE LOS HECHOS.....	14
2.1 SANGRE	14
2.2 SEMEN	15
2.2.1 En la víctima:.....	15
2.2.2 Manchas secas:.....	15
2.3 SALIVA	15
2.3.1 Sobre objetos:.....	15
2.3.2 Manchas secas:.....	16
2.4 PELO	16
3. SISTEMAS DE EMPAQUETAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS.....	16
3.1 EMPAQUETADO.....	16
3.2 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA.....	17
3.3 CUSTODIA DE LA MUESTRA.....	17
3.4 RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO	18
4. TÉCNICAS PERICIALES EMPLEADAS PARA LA INVESTIGACIÓN DE DELITOS SEXUALES	18
PERITO MEDICO FORENSE.....	18
4.1.2 Características del semen.	19
4.1.2 Pruebas de orientación y confirmación en el diagnóstico de restos de semen	21
Observación de espermatozoides.	22
Fosfatasa Ácida prostática. (ACP)	23
Antígeno específico de próstata (PSA) o proteína P30	24
4.2 Restos de sangre.	26
4.2.1 Características de la sangre.	26

4.2.2 Pruebas de orientación y confirmación en el diagnóstico de restos de sangre.	32
Reacción de Meyer.	32
Reacción de Adler.	33
4.3 Restos de saliva	33
4.3.1 Características de la saliva	33
4.3.2 Pruebas de orientación y confirmación en el diagnóstico de restos de saliva.	34
4.4 El pelo	35
4.5.1 Características del pelo.	35
4.4.2 Pruebas de orientación y confirmación en el análisis del pelo.	38
5. GENÉTICA FORENSE.....	41
5.1 ANTECEDENTES DEL PERFIL DEL ADN.....	41
5.2 BASES MOLECULARES DEL ADN	42
5.3 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO.....	47
5.3.1 Polimorfismo de un sólo nucleótido (SNP)	47
5.3.2 Polimorfismo en la longitud de secuencias simples (SSLP)	48
Secuencias minisatélites.....	48
6. HERRAMIENTAS EXPERIMENTALES PARA EL ANÁLISIS DEL ADN.	49
6.1 Enzimas de restricción.....	49
6.2 Análisis de restricción.....	50
6.3 Electroforesis.....	51
6.4 Secuenciación.....	52
6.5 Hibridación.	53
6.6 Southern blot	55
6.7 Técnicas de amplificación.....	56
6.8 Reacción en cadena de la polimerasa.	57
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	61
METODOLOGÍA.....	62
DISCUSIÓN.....	63
CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

RESUMEN

El delito de violación es definido en el código penal del D.F., al que por medio de la violencia física o moral realice cópula con persona de cualquier sexo, se entiende por cópula a la introducción del pene en el cuerpo humano por vía vaginal, anal o bucal, cuando la víctima fuere menor a doce años, cuando la persona se encontrare privada de razón, de sentido o cuando por cualquier otra causa no pudiese resistir al ataque.¹

Las agravantes están dadas cuando resultare un grave daño en la salud de la víctima, por la relación víctima victimario (ascendiente, descendiente, afín en línea recta, hermano, encargado de la educación o guarda de aquella, o con el concurso de dos o más personas), como asimismo, si resultare la muerte de la víctima.¹

Siendo un delito en que se priva a la víctima de su libertad sexual, el Estado interviene para garantizar la libertad de esta en la comunidad, por lo mismo, dentro de sus fines, tiende a tutelar inclusive penalmente, sabedor de que con frecuencia algunos sujetos rebasan los límites violentando la libertad de otros creando conflicto social.

Ante esta realidad, la Fiscalía para Delitos Sexuales de la PGJDF – creada en 1991 y cuyas funciones son recibir denuncias de ese tipo de crímenes, integrar las averiguaciones previas y apoyar psicológicamente a las víctimas y a sus familiares se ha dado a la tarea de establecer patrones psicológicos y de “modus operandi” de los agresores sexuales con miras a identificarlos y disponer

medidas de prevención en una ciudad donde, según cifras oficiales, ocurre una violación cada siete minutos.^{1 y 2}

En 1989 la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal y de otros Estados han creado Agencias Especializadas en Delitos Sexuales, con el fin de recibir las denuncias por estos delitos, orientar a las víctimas y derivarlas -a ella y a sus familiares- a organismos especializados para el apoyo terapéutico y legal.²

En 1994 había 16 de estas agencias en el país. Al mismo tiempo, también en el Distrito Federal, desde 1989, la Procuraduría de Justicia cuenta con un Centro de Terapia de Apoyo a Víctimas de Delitos Sexuales que capacita además a funcionarios de las Procuradurías de los Estados en su trabajo en las AEDS (Agencias Especializadas de Delitos Sexuales). Desde 1990 tiene un Centro de Atención a la Violencia Intrafamiliar, que da orientación psicoterapéutica a víctimas y victimarios. Es por esto que la investigación consiste en el análisis de los elementos que conforman la evidencia biológica recuperada en los casos de violación sexual, ya sea en el lugar de los hechos o directamente recolectados de la víctima.¹

El semen, la sangre y los pelos casi siempre son testigos mudos de las agresiones sexuales, o sea de los delitos que atentan contra la libertad sexual. En este trabajo se hace una recopilación de los diferentes exámenes de laboratorio realizados a la víctima de violación y a imputados.³

Es importante mencionar que las evidencias aquí recolectadas y analizadas están orientadas a demostrar la existencia de cópula, acceso carnal, además de la posible identificación del agresor. El

peritaje de exámenes de laboratorio de los diferentes fluidos biológicos incluye también la forma de recolección y preservación de los mismos.

Fluidos biológicos a analizar:

1. Sangre y manchas de sangre
2. Semen y manchas de semen
3. Cabellos con folículo
4. Contenido vaginal, vulvar y perivulvar⁴

El presente trabajo consiste en realizar una recopilación bibliográfica, de carácter documental y abarcará aspectos desde la recolección de evidencia en la escena de la agresión, hasta el examen de la víctima y los indicios que vinculen a la persona con el agresor.

Además también se mencionarán los estudios correspondientes de ADN ya que los individuos son idénticos entre sí en un 99% y sólo el 0,02% restante aproximadamente en 60000 nucleótido residen las diferencias entre unos y otros y que nos hacen un ser único (salvo en los casos de gemelos univitelinos que son genéticamente idénticos). El ADN está presente en todas las células del cuerpo humano (excepto los eritrocitos y las plaquetas), por lo que es posible extraerlo a partir de cualquier material biológico. Estas muestras biológicas son susceptibles de extraer y analizar, porque de manera directa y objetiva, independientemente de otro tipo de pruebas, con ellos se podrá demostrar la culpabilidad o la inocencia del presunto responsable.

La adecuada aplicación de técnicas para el examen de los indicios, especialmente las técnicas analíticas del ADN aportan una precisa individualización de las personas y con ello aportan así una herramienta ahora indispensable para resolver un posible caso de violación sexual.

INTRODUCCIÓN

Muchos años han pasado desde que Francis Galton (1822-1911), erudito inglés dedicado al estudio de la transmisión de caracteres humanos, explicara las bases de la individualización descubriéndonos que las huellas dactilares son características de cada individuo. En nuestros días, y adoptando el nombre de su herramienta, la huella genética (estudio de ADN) se nos presenta como una técnica imprescindible para la identificación de vestigios biológicos de interés forense.⁵

El estado actual de aplicación de estas técnicas debe su auge al gran avance biotecnológico que se ha producido en estas últimas dos décadas y que han hecho posible el estudio de indicios dejados en la escena del crimen o sobre la víctima de un crimen y que anteriormente hubiese sido imposibles de analizar con las técnicas convencionales. Desde la saliva dejada en una colilla hasta un pelo o los escasos restos epiteliales restantes en uñas en maniobras de forcejeo entre víctima y agresor, son hoy valiosas pruebas que pueden por sí solas arrojar la información suficiente para identificar a un sospechoso.⁵

Entre los tipos de agresiones violentas, las sexuales son específicamente propensas al estudio de vestigios biológicos ya que implican siempre un contacto físico entre la víctima y su agresor y consecuentemente, un intercambio de materiales tales

como pelos, fibras y fluidos biológicos, siendo las más frecuentes los restos de semen y saliva.⁵

Otra peculiaridad importante de este delito es que ocurren frecuentemente en ausencia de testigos. Incluso las declaraciones de la víctima que actúa como testigo directo de los hechos deben ser interpretadas con cautela, ya que a menudo concurren circunstancias que tergiversan su visión del asalto tales como graves traumatismos, consumo de alcohol y drogas, minusvalías síquicas, etc. Es por esto que todos los datos obtenidos en la historia del caso, la información obtenida por los médicos en el examen de las víctimas y los datos derivados de la investigación son los que deben marcar cómo debe procesarse el caso en el laboratorio y cuáles serán los indicios más relevantes cuyo análisis contribuya al esclarecimiento de los hechos.⁵

Técnicamente, se puede admitir que en toda actividad de las personas, existe un momento y un escenario en donde se desarrollan las diversas actividades del tipo social, político, religioso, familiar, etc. incluso criminal. Indudablemente, en cada escenario queda estampada en forma latente o visual la presencia de los protagonistas, a través de pequeños detalles dejados por cada uno como su único creador, (olores, sabores, huellas, manchas, estado y posición de las cosas, etc.), que permiten deducir fehacientemente de que evento se trató.²

LOS INDICIOS BIOLÓGICOS.

La primera medida a tomar cuando se tiene conocimiento de la comisión de un hecho delictivo, es la *PROTECCIÓN DEL LUGAR*.

El lugar del hecho es un escenario extraordinariamente importante que no debe ser alterado por malos procedimientos, en este encontraremos todas las evidencias que nos permitirán reconstruir el hecho investigado (huellas de calzados, manchas de sangre, semen, pelos, vellos, etc.).³

Los indicios, son el material sensiblemente significativo relacionado con los hechos que se investigan, constituye el objeto formal de estudio de la criminalística.³

Con relación al concepto de indicio según Clément: Son todos los objetos y todas las señales o huellas relacionadas directa o indirectamente con los hechos delictuosos que se investigan, y para los hermanos José Antonio y Miguel Lorente Acosta: Todo lo que el sospechoso deje o se lleve del lugar de los hechos, o que de alguna manera pueda conectarse con este último.²

El estudio de los indicios es de gran importancia ya que constituye la prueba científica del delito, a nuestro juicio el más importante y seguro de los medios de prueba que contempla la legislación penal moderna.³ Los indicios pueden ser encontrados tanto en el lugar de los hechos, en el cuerpo de la víctima o el victimario, como en las áreas relacionadas, ya sean próximas o

distantes. Su manejo inadecuado conduce a su contaminación, deterioro o destrucción, siendo estas las causas más frecuentes que impiden su ulterior examen en el laboratorio.³

Los indicios que podemos encontrar en el lugar de los hechos son diversos, así tenemos: huellas, objetos, armas, proyectiles, casquillos, papeles, cuerdas, vestidos, manchas (sangre, semen, orina, etc.), pelos, fibras, polvos, etcétera.³



Indicios biológicos.³⁹

El examen forense de los indicios, también denominados evidencia física comprende varios pasos: su reconocimiento en el lugar de los hechos, su registro documental con relación al lugar de los hechos, su colección y preservación, su análisis, la interpretación

de los resultados derivados de su examen y, finalmente, el reporte de los mismos, es decir, emisión del dictamen.³

Para que los indicios tengan un valor criminalístico y, por tanto, también procesal, los indicios deben reunir ciertas condiciones, deben tener una relación con el hecho primordial y que servirá de inicio para la conclusión que se busca y que reunidos en su totalidad conduzcan lógicamente y naturalmente al hecho que se trate.⁶

En el caso de una violación sexual, las muestras de laboratorio que se entreguen para su análisis, tienen como objetivos establecer los siguientes conceptos:

1. ADN de víctima y agresor.
2. Administración de tóxicos a la víctima.
3. Enfermedades de transmisión sexual preexistentes en la víctima.⁶

Todo esto con el fin de confirmar un delito y establecer la vinculación del acusado con el hecho.⁵

MARCO TEÓRICO

La palabra acceso, procede del latín (accesos: entrada, paso). El acceso carnal es denominado cópula. Tradicionalmente se ha definido como la introducción completa e incompleta del miembro viril en la vía vaginal, anal o bucal de la víctima.⁶

Legislación penal: Art. 265. Al que por medio de violencia física o moral realice cópula con una persona sin la voluntad de esta comete un delito de violación.⁷

Podemos resumir este delito diciendo que la violación sexual es cópula con violencia. Resulta obvio entonces, que el médico hará su exploración dirigiendo su atención hacia signos que hablan de cópula y a los que indican acciones violentas. Es observable que la violación no hace referencia al sexo del sujeto pasivo. Esto es que la violación puede cometerse contra una persona de cualquier sexo. En este caso, la exploración deberá dirigirse al conducto ano-rectal buscando desgarros, equimosis, tono del esfínter y secreciones. A estas últimas se les manejará similar a las encontradas en la vagina y esto es extensivo a cualquier otra superficie o cavidad corporal, ya que la violación se puede consumir vía vaginal, anal u oral.⁸

La autoridad legal puede también solicitar al médico el estudio del probable responsable, el examen general deberá orientarse con preferencia a los órganos genitales buscando lesiones y secreciones.⁸

1. PRECAUCIONES GENERALES DURANTE LA RECOGIDA Y ENVÍO DE MUESTRAS

Para asegurar el éxito del estudio de los indicios biológicos, es importante resaltar que para evitar su alteración es importante levantar y marcar el indicio biológico lo más pronto posible, embalar correctamente, registrar por escrito todos los detalles del lugar de los hechos, entregar el indicio biológico al laboratorio procurando en su traslado y recepción seguir guardando la cadena de custodia (se debe tener un registro fiel del curso seguido por los indicios, es decir, que personas los tuvieron en sus manos, a partir del momento en que fueron levantados del lugar de los hechos, hasta que fueron entregados al laboratorio).^{2 y 10}

2. TOMA DE INDICIOS BIOLÓGICOS EN EL LUGAR DE LOS HECHOS

2.1 SANGRE

2.1.1 Sangre líquida:

Deberá tomarse con ayuda de una pipeta Pasteur o de un gotero, depositarlo en un tubo de ensaye limpio con 1ml de solución salina estéril por cada 5ml de sangre recolectada.⁹

2.1.2 Coágulos:

Se toman con el extremo de un aplicador de madera y se colocan en el interior de un tubo de ensaye con solución salina.⁹

2.1.3 Manchas secas:

Levantar en pequeños fragmentos y colocar en papel absorbente humedecido con solución salina.⁹

2.2 SEMEN

2.2.1 En la víctima:

Tomar dos muestras en la cavidad vaginal, anal y boca, por medio de hisopos y depositarlos en tubos de ensaye con solución salina estéril. Los espermatozoides se pueden identificar en la vagina luego de 24 horas y, a veces hasta 72 horas después del contacto sexual.^{3 y 13}

2.2.2 Manchas secas:

Desprender con mucho cuidado las costras y depositarlas en un tubo de ensaye. Si la mancha está sobre un objeto sólido no transportable se macera con solución salina y se recoge el líquido resultante con una pipeta y se envasa en un tubo de ensaye.⁹

2.3 SALIVA

2.3.1 Sobre objetos:

Suele encontrarse en las boquillas de cigarro y puros, en las pipas, pañuelos, vasos y tazas, en las estampillas postales y chicles por lo que estos objetos se guardaran en sobres de papel para su envío al laboratorio.¹⁰

2.3.2 Manchas secas:

Levantar con hisopos estériles humedecidos con solución salina, hacer un barrido sobre la mancha hasta impregnar la saliva, colocar la muestra en un tubo de ensaye, este se coloca en un contenedor hermético con gel de enfriamiento. Si la víctima presenta rastros de mordedura por parte de su agresor, se sigue el mismo procedimiento para recolectar el indicio o evidencia.¹⁰

2.4 PELO

Levantar con pinzas y depositar la evidencia en un tubo de ensaye o recipiente con cierre hermético y posteriormente depositar en bolsa de papel o plástico.¹⁰

3. SISTEMAS DE EMPAQUETAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS

3.1 EMPAQUETADO

Embalar en empaques limpios y apropiados

- Tubos de ensaye
- Hisopos estériles
- Bolsas de papel
- Papel absorbente¹¹

3.2 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Los datos que deberán identificar en el rótulo al indicio o evidencia material levantada son:

- Fecha y Hora
- Dirección del lugar sujeto a investigación (hechos o hallazgos)
- Número de expediente o carpeta de investigación
- Número de indicio
- Ubicación exacta dentro del lugar sujeto a investigación
- Clase de indicio o evidencia material
- Descripción del indicio o evidencia material
- Observaciones
- Nombre y firma del perito¹¹

3.3 CUSTODIA DE LA MUESTRA

El registro de cadena de custodia deberá contener lo siguiente:

- Datos de la averiguación previa
- Fecha y hora en que inicia el registro de cadena de custodia
- Descripción del indicio o evidencia
- Datos de la diligencia
- Nombre y firma de quién halló el indicio o evidencia, de quién la recolecto y de quién la embolsó
- Tipo de empaque
- Nivel de seguridad (Condiciones de manejo)
- Medios de fijación
- Fecha y hora de entrega
- Fecha y hora de recepción

- Nombre, firma y datos de quien recibe
- Propósito de la entrega
- Observaciones¹¹

3.4 RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

El perito que reciba el embalaje dejará constancia del estado en que se encuentra y procederá a las investigaciones y análisis del indicio o evidencia a la menor brevedad posible.¹¹

4. TÉCNICAS PERICIALES EMPLEADAS PARA LA INVESTIGACIÓN DE DELITOS SEXUALES

PERITO MÉDICO FORENSE

Para la integración de las indagatorias iniciadas por delitos sexuales los peritos médicos legistas que intervienen realizan los siguientes exámenes:

- a)** Ginecológico.- Realizado a la víctima. Si presenta desfloración reciente o no, comparativamente a la carátula del reloj, himen elástico o no.²
- b)** Proctológico.- Realizado a víctima. Si presenta borradura en pliegues anales o sin alteraciones.²
- c)** Andrológico.- Realizado al probable responsable, para determinar si es apto o no para el coito.

Si se trata de menores de edad, se realiza además determinación de talla y peso, y edad clínica probable.²

PERITO QUÍMICO FORENSE

Su intervención es para determinar la presencia e identificación de restos biológicos que se encuentran tanto en la escena del crimen o directamente sobre la víctima.²

4.1 Restos de semen

4.1.2 Características del semen.

El semen es una mezcla viscosa de células, aminoácidos, azúcares, sales, iones y otros componentes orgánicos e inorgánicos en cuya elaboración participan principalmente la vesícula seminal, la glándula prostática, la glándula de Cowper y los testículos.⁵

El semen está compuesto por cuatro fracciones que provienen de los testículos, el epidídimo, los vasos seminales, la próstata y las glándulas bulbouretrales. Cada fracción difiere en su composición, y el mezclado de las cuatro durante la eyaculación es esencial para la producción de una muestra de semen normal.¹²

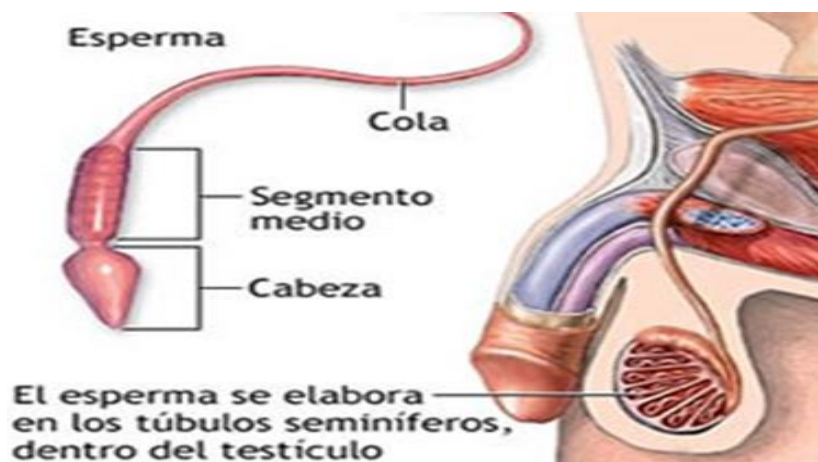
Los conductos eyaculadores reciben espermatozoides del conducto deferente y líquido de las vesículas seminales; estas últimas producen la mayor parte del líquido presente en el semen (60-70%).¹²

Alrededor del 20-30% del volumen del semen es un líquido ácido producido por la próstata. El cual contiene concentraciones elevadas de fosfatasa ácida, ácido cítrico cinc y enzimas proteolíticas que determinan la coagulación y la licuefacción del semen después de la eyaculación.¹²

Composición del semen¹²

Espermatozoides	5%
Líquido seminal	60-70%
Líquido prostático	20-30%
Glándulas bulbouretrales	5%

El principal componente celular del semen es el espermatozoide, célula especializada, flagelada y con una morfología peculiar. Suele medir entre 5 a 6 micras de largo y 2 a 3 micras de ancho, y se distingue básicamente dos partes: cabeza y cola. La cabeza tiene forma oval y aplanada, con unas dimensiones de 4 a 5 micras de largo x 2 micras de ancho x 1.5 micras de grosor. Su número puede variar pero suelen ser mayores a 20 millones por mililitro de eyaculado. El volumen de eyaculado también varía entre 2mL y 6mL.^{5 y 12}



Esperma.⁴⁰

Además de los espermatozoides, en el semen podemos encontrar otros elementos formes tales como leucocitos y células epiteliales del tracto urinario aunque en un número mucho menor. En un individuo normoespermo podemos esperar concentración más alta de espermatozoides y por tanto de ADN que en un individuo azoospérmico en el cual la presencia de espermatozoides será mínima o nula.⁵

Otros rasgos característicos del semen son su pH básico (8.3) y su capacidad de fluorescer en la región visible del espectro cuando es irradiado con luz ultravioleta. Esta capacidad de fluorescencia en las manchas se debe, según algunos autores, a dos procesos; por un lado la conversión de sustancias no proteicas en otros componentes capaces de fluorescer y por otro lado al crecimiento de determinadas bacterias tales como *Pseudomonas fluorescens*.⁵

La presencia característica de concentraciones altas de fosfatasa ácida y de una proteína específica (proteína P30 o PSA) serán rasgos que se utilizan en el diagnóstico previo en la investigación de restos de semen.⁵

4.1.2 Pruebas de orientación y confirmación en el diagnóstico de restos de semen

Aquellas muestras que llegan al laboratorio y se suponen que son directas corporales sobre la víctima, tienen un proceso muy sistematizado. Las pruebas de orientación tienen mayor utilidad cuando se trata de localizar el vestigio entre ropas de la víctima,

superficies grandes tales como sábanas, mantas o entre manchas dubitadas recogidas del lugar de los hechos.⁵

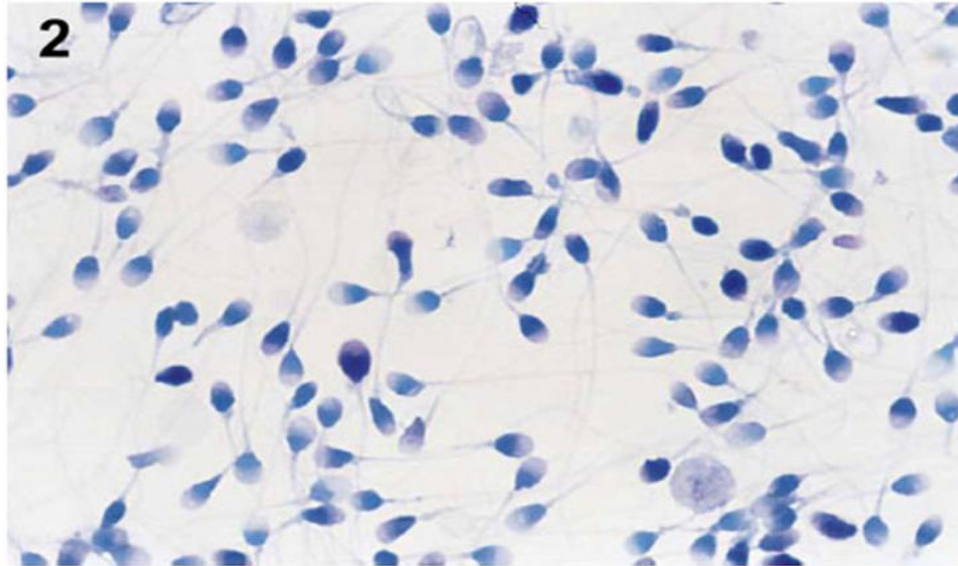
En estos casos, el papel de un test presuntivo de orientación recae más en su habilidad para descartar la presencia de semen en una mancha cuestionada que en la de indicar la presencia de semen. Es necesario un examen visual exhaustivo y minucioso de las distintas prendas, asistido si es posible con el uso de una fuente de luz forense (luz ultravioleta), con distintas longitudes de onda y distintos filtros. Los test presuntivos más utilizados en el laboratorio forense se basan en técnicas bioquímicas que revelan la presencia de actividad fosfatasa ácida y técnicas inmunológicas que revelan la presencia del antígeno específico de próstata (PSA o proteína P30). Las técnicas de confirmación implican la observación de espermatozoides en preparaciones microscópicas realizadas a partir de las muestras a analizar.⁵

Los espermatozoides se pueden identificar en la vagina después de 24 horas y, a veces, hasta 72 horas después. Se pueden llevar a cabo exámenes serológicos y enzimáticos del semen (además de la identificación espermatooscópica) después de periodos muy largos, se deben conservar las muestras para una posible identificación de ADN.¹³

Observación de espermatozoides.

La presencia de espermatozoides en una muestra de semen se evalúan mediante un frotis delgado, teñido y observado con aceite

de inmersión. La tinción puede realizarse con las técnicas de Wright, Giemsa o Papanicolaou.¹²



Frotis de esperma.⁴¹

Fosfatasa Ácida prostática. (ACP)

Enzima que cataliza la hidrólisis de ciertos fosfatos orgánicos. Su localización es muy ubicua no sólo en otros tejidos humanos sino también en animales y plantas. Sin embargo, las altas concentraciones en que se encuentra en el plasma seminal suponen un rasgo característico. Es secretada por la células epiteliales de la glándula prostática en grandes cantidades desde la pubertad hasta aproximadamente los 40 años, edad a partir de la cual decrece gradualmente la cantidad secretada. No se ha encontrado ninguna relación entre los niveles de ACP entre individuos normoespermos e individuos clínicamente infértiles o con vasectomía.⁵

La determinación de la fosfatasa ácida prostática se determina usando α -naftil fosfato, como sustrato ha demostrado sensibilidad y especificidad para determinar la actividad de la enzima.⁸

Fundamento: La fosfatasa ácida hidroliza el α -naftil fosfato a pH 5,2 con liberación de fosfato y α -naftol. El naftol reacciona a su vez con un diazorreactivo presente en el sistema produciendo un pigmento amarillo, de modo que el aumento de la absorbancia, leído a 405 nm, es proporcional a la actividad de fosfatasa ácida total de la muestra. Cuando se mide la actividad en presencia de tartrato, se inhibe la actividad de la isoenzima prostática. La diferencia entre las actividades de fosfatasa ácida total y de la resistente al tartrato corresponde a la fracción prostática.⁹

Antígeno específico de próstata (PSA) o proteína P30

Fue identificada por Sensabaugh en 1978, y se bautizó en un principio en función de su peso molecular (30 000 daltons). Es una glicoproteína dializada que se origina en la próstata, por lo que la vasectomía no afecta su presencia en el líquido seminal. Su principal función es licuar el líquido seminal. Su intervalo de concentración varía entre 300 y 4000 microgramos por mililitro de semen. No se ha detectado la presencia de PSA en ningún tejido o fluido femenino utilizando la técnica de ELISA. Tampoco se ha identificado su presencia en el semen de otras especies animales domésticas (carnero, toro, cerdo, gato), aunque si se encuentra en primates tales como el orangután y macaco en rangos de concentración semejantes al humano, si bien en estas especies la

actividad de la fosfatasa ácida es extremadamente baja comparada con la humana.⁵

El método más utilizado para la determinación de PSA es de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent) ensayo por inmunoabsorción ligados a enzimas una técnica de inmunoensayo.

Fundamento: Es un método analítico que se basa en la reacción antígeno-anticuerpo, la determinación de un antígeno o anticuerpo, mediante el uso de uno de ellos inmovilizado en fase sólida y el otro en solución. El producto de la reacción puede ser detectado y cuantificado mediante un marcador enzimático con un sustrato apropiado. Las enzimas son capaces de modificar el sustrato en presencia de un cromógeno produciendo un producto coloreado que es detectado visualmente o por un espectrofotómetro. La ventaja de esta técnica es que no requiere de gran cantidad de muestra para llevarlo a cabo.¹⁴

En el hombre, la orina, el suero y el sudor contienen niveles de PSA usualmente muy por debajo del límite de detección forense. La detección de altos niveles de PSA en suero es un marcador utilizado en el seguimiento y diagnóstico del carcinoma de próstata. El suero sanguíneo de hombres contiene por debajo de 4ng/mL y algunos cánceres de próstata pueden encontrarse en un rango normal de PSA en suero (0 a 4ng/mL).⁵

4.2 Restos de sangre.

4.2.1 Características de la sangre.

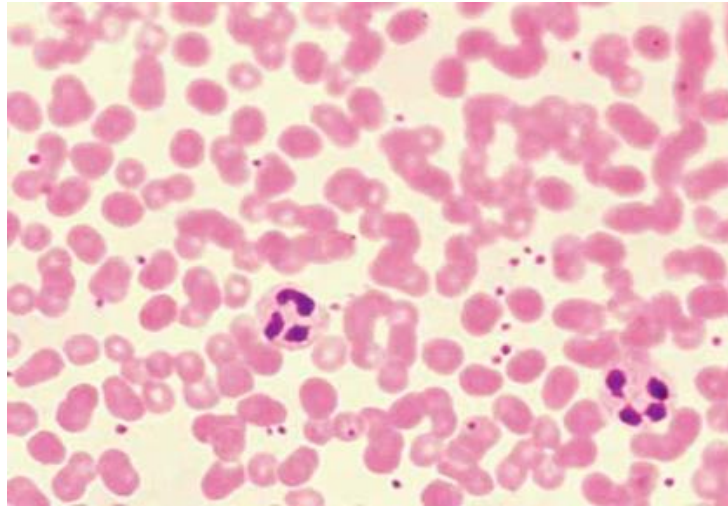
La sangre es una modalidad de tejido conjuntivo compuesto por células sanguíneas suspendidas en un líquido intercelular (o plasma). Entre estas células se encuentran los eritrocitos (glóbulos rojos), las plaquetas (trombocitos) y los leucocitos (glóbulos blancos).¹⁵

La sangre es de alrededor de un 7% del peso del cuerpo humano promedio y por lo tanto un adulto tiene un volumen de sangre de aproximadamente 5 litros de los cuales 2,7 a 3 litros son plasma. El pH de la sangre es de aproximadamente 7,40.¹⁶

Eritrocitos (glóbulos rojos)

Son los más numerosos, tienen forma de disco bicóncavo, carecen de núcleo y cuando son maduros no tienen orgánulos y se encargan de transportar gases. Con la tinción de Wright los eritrocitos se ven de color rosa y el centro pálido.¹⁵

Los eritrocitos se generan en la médula ósea y entran en la circulación sanguínea a través de las paredes de sinusoides de la médula. Duran unos 120 días, y son destruidos por los macrófagos en el bazo, el hígado y la médula ósea. Los eritrocitos tienen una concentración muy elevada de hemoglobina. Esta se encarga de transportar el oxígeno a los tejidos periféricos y de retirar el dióxido de carbono de los mismos.¹⁶



Eritrocito¹⁷

Plaquetas

Son fragmentos celulares muy diminutos que no tienen núcleo, no se pueden dividir y proceden de células muy voluminosas llamadas megacariocitos. Las plaquetas desempeñan una función importante en la hemostasia.¹⁵

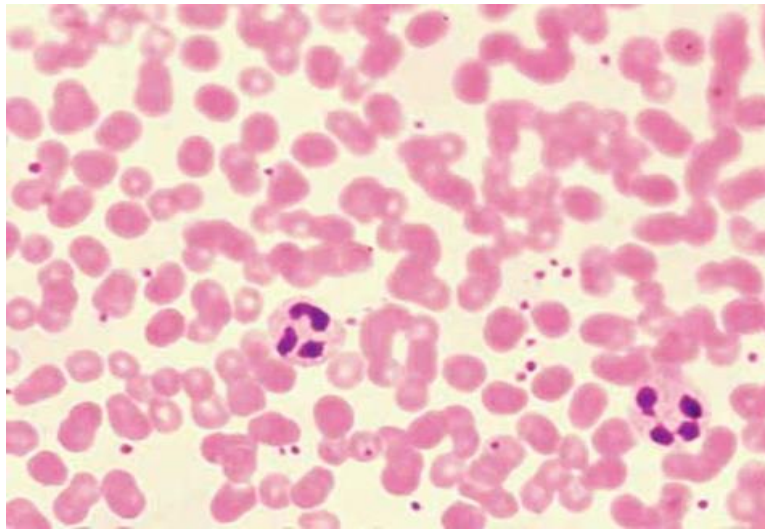
Leucocitos (glóbulos blancos)

Los glóbulos blancos o leucocitos (3,0%) forman parte del sistema inmunológico; son los encargados de destruir los agentes infecciosos. Su valor normal está entre 3500 y 1100 por mm³. Tienen como función principal defender al organismo contra las infecciones. Los leucocitos se pueden clasificar como agranulocitos o granulocitos, según la ausencia o presencia de gránulos específicos en su citoplasma.¹⁵

Granulocitos

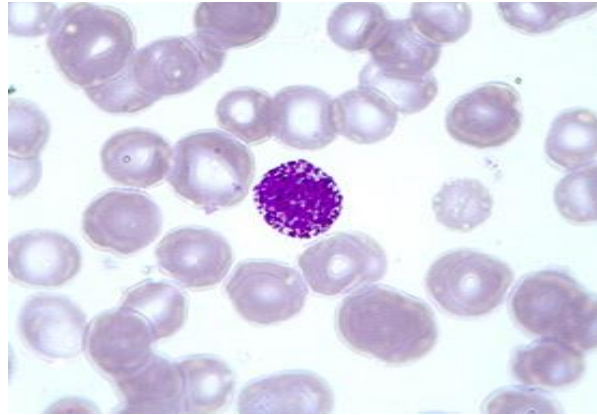
Neutrófilos: Son los granulocitos más abundantes entre los leucocitos, tiene un núcleo multilobulado (dos o cinco lóbulos

interconectados) y un citoplasma color rosa pálido con muchos gránulos o vesículas. Su valor normal oscila entre 2000 y 7500 por mm³. Son los más numerosos, ocupando un 65% a 75% de los leucocitos. Se encargan de atacar y fagocitar sustancias extrañas (bacterias, agentes externos, etc.) que entran en el organismo. En situaciones de infección o inflamación su número aumenta en la sangre.¹⁵



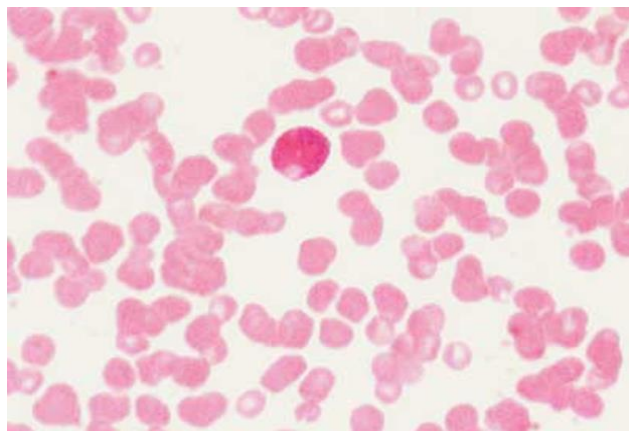
Neutrófilo¹⁷

Basófilos: Son los leucocitos menos numerosos en el torrente circulatorio, y suponen menos del 1% del total. Poseen núcleos con dos o tres lóbulos unos gránulos grandes distribuidos de forma desigual por el citoplasma, que tiñen de violeta intenso con la tinción de Wright. Segregan sustancias como la heparina, de propiedades anticoagulantes, y la histamina que estimula el proceso de la inflamación. Componen un 0.5% de los glóbulos blancos.¹⁵



Basófilo¹⁷

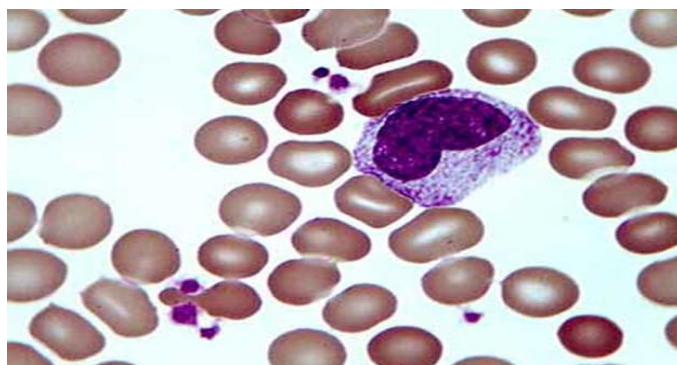
Eosinófilos: Tienen un núcleo con o dos o tres lóbulos (segmentado), y un citoplasma con numerosos gránulos específicos (eosinófilos) y algunos gránulos azurófilos. Los gránulos específicos contienen hidrolasas ácidas, peroxidasas, histaminasas, proteínas básicas y proteínas catiónicas eosinófilas, que tienen propiedades antihelmínticas. Los gránulos azurófilos poseen enzimas lisosómicas. Aumentan en enfermedades producidas por parásitos, en las alergias y en el asma. Son aproximadamente 2% a 5% de los leucocitos.¹⁵



Eosinófilo¹⁷

Agranulocitos

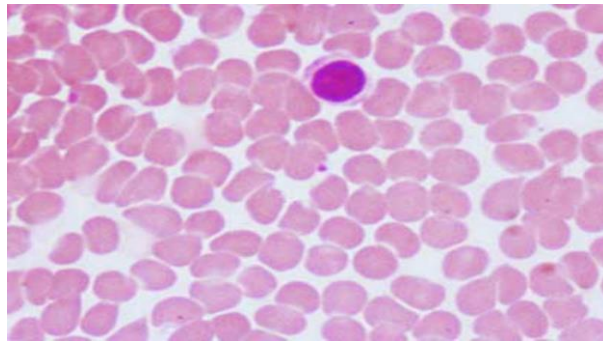
Monocitos: Son las células agranuladas más voluminosas de la sangre periférica. Cada una tiene un núcleo grande y alargado, a menudo reniforme o con forma de herradura. El citoplasma es gris azulado y tiene un número variable gránulos de color púrpura y azul oscuro, que se denominan gránulos azurófilos. Los gránulos azurófilos son lisosomas, por lo que son gránulos inespecíficos del citoplasma. Valor normal entre 200 y 800 por mm^3 (3% a 8% del total de glóbulos blancos). Esta cifra se eleva casi siempre por infecciones originadas por virus o parásitos. También en algunos tumores o leucemias.¹⁵



Monocito¹⁷

Linfocitos: Los linfocitos pueden ser de tamaño pequeño o mediano. Cada uno tiene un núcleo relativamente grande y redondeado dentro de un delgado borde de citoplasma (que suelen tener forma de medialuna). Se pueden clasificar en linfocitos B y T, según su función en la inmunidad. Los linfocitos B son los responsables de la respuesta inmunitaria humoral, en la que secretan inmunoglobulinas después de que se diferencien en células plasmáticas. Los linfocitos T son responsables de la

respuesta inmunitaria celular. En los frotis sanguíneos no pueden distinguirse los linfocitos B de los T por la forma. Su valor normal oscila entre 1000 y 4500 por mm^3 (3% a 8% del total de glóbulos blancos). Aumentan sobre todo en infecciones por virus o parásitos. También en algunos tumores o leucemias, produciendo anticuerpos.¹⁵



Linfocito¹⁷

Plasma sanguíneo

El plasma sanguíneo es esencialmente una solución acuosa conteniendo 96% agua, 4% proteínas y algunos rastros de otros materiales (hormonas, electrolitos, anticuerpos, etc.). El plasma sanguíneo es la porción líquida de la sangre en la que están inmersos los elementos formes. Es salado y de color amarillento. Además de transportar las células de la sangre, también lleva los alimentos y las sustancias de desecho recogidas de las células. El plasma origina el suero sanguíneo cuando se coagula la sangre.¹⁶

El plasma es una mezcla de proteínas, aminoácidos, glúcidos, lípidos, sales, hormonas, enzimas, anticuerpos, urea, gases en disolución y sustancias inorgánicas como sodio, potasio, cloruro

de calcio, carbonato y bicarbonato. El agua constituye el 91% y las proteínas el 8%.¹⁶

4.2.2 Pruebas de orientación y confirmación en el diagnóstico de restos de sangre.

El estudio de los rastros de sangre abarca dos momentos, a saber: el químico, reacciones de probabilidad y certeza, que se lleva a cabo en el laboratorio, fundamentalmente; y el reconstructivo, que se cumple en el lugar de los hechos, en el presente trabajo sólo se abarcará el aspecto químico.³

Para demostrar la naturaleza sanguínea de la mancha, disponemos de técnicas microscópicas cuya utilidad estriba en poner de manifiesto los elementos formes de la sangre, además se debe identificar si la mancha de sangre es de origen humano o animal; lo que constituye uno de los problemas más importantes en medicina legal.¹⁸

Se debe comparar la forma de los eritrocitos tanto humanos como de animal de tal forma que sabemos que el eritrocito del hombre es de 7.5 milésimas de milímetros, que en comparación con el tamaño de los eritrocitos de animales son los más grandes de todos y que los eritrocitos de aves y batracios son elípticos.²³

Dentro de las pruebas de orientación existen numerosas técnicas que ponen de manifiesto si una mancha es de sangre sin embargo solo se mencionaran algunas de ellas:

Reacción de Meyer.

Se basa en la reacción con fenoftaleína, reactivo muy alterable y por lo que hay que prepararlo cuando se va a realizar la prueba.

Se utiliza 2.0g de fenoftaleína, 20.0g de potasa anhidra, 100 cc de agua destilada, se disuelven, se hacen hervir y se les agrega 20.0g de polvo de zinc y se filtra. Ya disuelta la mancha sospechosa, se coloca 1cc del reactivo y dos gotas de agua oxigenada; si hay sangre aparece un color rojo.¹⁸

Reacción de Adler.

El reactivo es una solución saturada de bencidina en alcohol de 95 grados o ácido acético

En un tubo de ensaye se pone 1cc de la solución de la mancha se agrega 1cc del reactivo y unas gotas de agua oxigenada. Si es sangre se produce un color verde y luego una coloración azul de prusia intenso.¹⁸

Otro estudio presuntivo es el basado en la investigación de aglutinógenos en el sistema ABO.¹⁹

El estudio de individualización en sangre es el ADN, un análisis completo nos revela el perfil genético de la persona, en virtud de que no existen dos personas ADN idénticas, con excepción de los denominados gemelos univitelinos.¹⁹

4.3 Restos de saliva

4.3.1 Características de la saliva.

Se produce alrededor de 1 y 1.5 litros de saliva en 24 horas. La cantidad producida depende del estímulo externo. La saliva se produce en el acino terminal y sufre diferentes cambios de concentración electrolítica en el trayecto hasta el conducto excretor. La saliva se compone de electrolitos, enzimas, otras proteínas, vitaminas y hormonas. La concentración electrolítica no

depende de la concentración plasmática. Las funciones de la saliva son muy importantes: lubricación de las membranas mucosas, limpieza local, protección de los dientes, actividad antibacteriana y producción de inmunoglobulina A secretora y lisozimas.

4.3.2 Pruebas de orientación y confirmación en el diagnóstico de restos de saliva.

El diagnóstico presuntivo se basa en la búsqueda con luz ultravioleta, debido a que poseen cierta aunque débil fluorescencia de mucina. Sin embargo, no hay que olvidar la posibilidad de fluorescencia propia del soporte. En el caso de las manchas secas se puede determinar el sistema ABO, lo que permite la determinación del grupo sanguíneo. Por cuanto se refiere a la determinación del sexo, se determina mediante pruebas de ADN.³

La saliva está constituida por agua y sales minerales carentes de materia orgánica, pero transporta restos epiteliales y leucocitos que contienen de ADN.³

En virtud de que la saliva puede contener células en suspensión de las que es posible extraer el ADN, mediante técnicas genéticas, se puede lograr una identificación segura y directa.³

4.4 El pelo

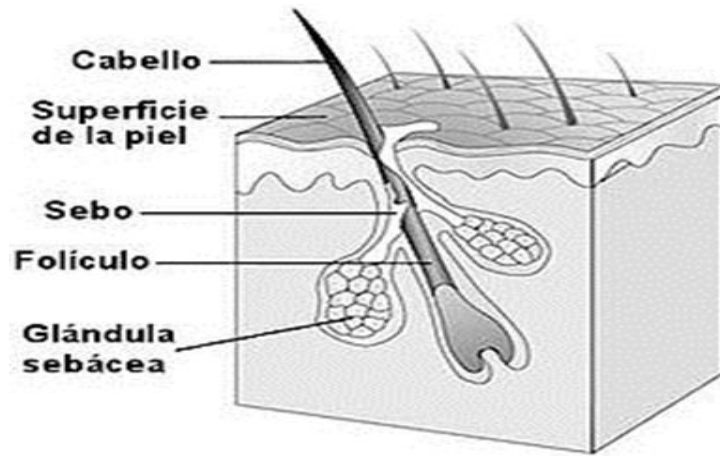
4.5.1 Características del pelo.

Son Filamentos cornificados que se desarrollan en la epidermis; su longitud varía entre varios milímetros, hasta de un metro, y el espesor, entre 0,05mm y 0,6mm. Se distribuyen con densidad variable sobre toda la piel con excepción de las plantas de los pies, las palmas de las manos, las caras inferiores y laterales de los dedos de la mano y del pie, la cara superior de la tercera falange, los labios, el glande del pene, el prepucio y la superficie interna de los labios mayores.²⁰

Cada pelo se forma por una invaginación tubular de la piel, el folículo piloso cuyas paredes están formadas por epidermis y dermis. En el extremo profundo del folículo piloso hay una saliente de tejido conectivo que constituye la papila pilosa. La raíz continúa con el tallo piloso cuyo diámetro es mayor y sale a la piel.²⁰

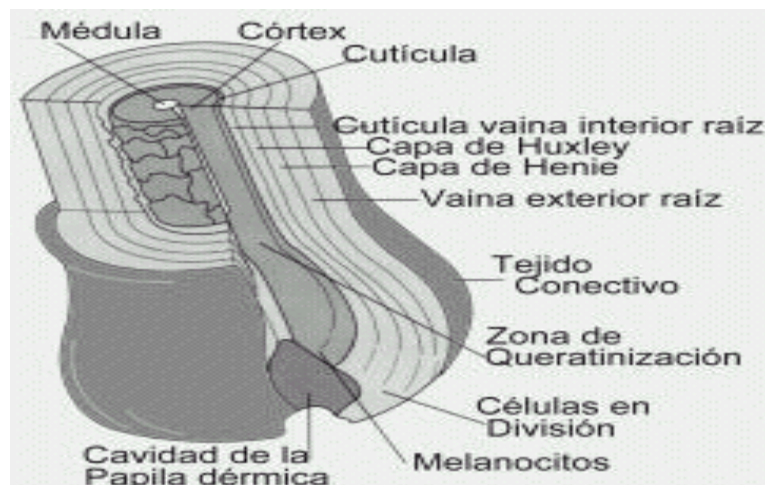
Conectado a cada pelo, hay una glándula o más, sebáceas, están situadas en el ángulo obtuso y se abren en el cuello del folículo. El primer pelo en aparecer es el "lanugo", este pelo se pierde en el séptimo u octavo mes de vida intra - uterina flotando en el líquido amniótico. El pelo ésta constituido por proteínas 28%, lípidos el 2% y en pequeñas cantidades, sales minerales y sustancias hidrófilas aproximadamente el 70% de agua. La sustancia de sostén del pelo es la queratina que está formada por macro

moléculas constituidas por largas cadenas de aminoácidos que se une entre sí.²⁰



Estructura del pelo²¹

En la estructura del pelo podemos distinguir que su eje está compuesto de afuera hacia adentro, por tres planos: la cutícula o escamas, la corteza o cortex y la médula.²⁰



Estructura interna del pelo²²

La cutícula: Se le atribuye la resistencia y estabilidad, está formada por escamas superpuestas que siempre apuntan hacia la punta del pelo. Las escamas están formadas por células especializadas, las cuales se apilan desde el folículo y el nacimiento del cabello, forman 6 a 8 capas.²⁰

En el hombre, la cutícula es suave y poco saliente, con escamas imbricadas, en los animales, son gruesas y poco imbricadas. En general los cabellos de una misma persona, arrojan valores de índice escamoso muy similares, y, si bien no existen gran variedad de estos índices para distintos individuos. Es útil en algunos casos para descartar un cabello de otro origen al que se estudia. Su determinación se efectúa normalmente bajo observación al microscopio utilizando ocular de 10 x micrométrico y objetivo de 25x. La corteza: Está sostenida de la capa protectora de la cutícula, sus elementos son células corticales en formas de aguja, las cuales se alinean en una formación regular paralelas a la longitud del cabello.²⁰ Se distinguen en el cortex dos estructuras principales: Una es semicristalina, formada por cadenas polipépticas, en las direcciones del tallo piloso. Estas cadenas se denominan microfibrillas. Rodeando estas fibrillas se encuentra una estructura con alto contenido de azufre y prolina llamada matriz.²⁰

La mayor importancia forense de la corteza proviene del hecho de que se halla implantada con gránulos pigmentados que originan el color del cabello. El color y la distribución de estos gránulos dan

al criminalista importantes puntos de comparación entre cabellos humanos.²⁰

No todos los pelos tienen médula, y cuando la tienen, pueden variar el grado de medulación. La médula ofrece una serie de datos, debiendo considerarse la medida del diámetro total y el diámetro medular. En los cabellos de hombre se encuentran valores promedios de índice medular de 0,25 a 0,35 y en las mujeres, inferiores a 0,20. El pelo humano puede no exhibir médula o tenerla fragmentada, raramente muestra una medulación continua; en cambio en los animales tienen médulas que son continuas o interrumpidas.²⁰

4.4.2 Pruebas de orientación y confirmación en el análisis del pelo.

El primer problema a resolver consiste en averiguar si se trata de pelo o algo similar. Esta cuestión se aclara mediante el examen microscópico del elemento, para lo cual deben tomarse en cuenta las características de la cutícula, de los pigmentos y de la estructura medular. Una vez resuelta la primera cuestión se realiza un estudio para determinar la especie zoológica a la que pertenece, la morfología de la médula varía mucho de una especie animal a otras, rasgo distintivo de gran valor para la identificación zoológica. Al respecto existen diferencias entre la médula de los pelos humanos y la de otras especies animales, según Carlos A. Guzmán.²⁰

Hay casos en que la diferenciación salta a la vista y no hay confusión sobre a qué especie pertenece el pelo encontrado, sin

embargo y para evitar errores, se debe hacer una revisión al microscopio.¹⁸

PELO HUMANO	PELO ANIMAL
Canal Medular	
Red aérea granulosa	Contenido aéreo voluminoso
Células medulares invisibles	Células medulares aparentes
IM: 0,3	IM: 0,5
Pelos del vello: sin médula	Pelos del vello: médula en escalones ó moliniforme
Sustancia Cortical	
Forma un grueso manguito	Constituye un cilindro hueco
Pigmento en granulaciones	Pigmento en granulaciones mayores que en el hombre
Cutícula	
Escamas delgadas, poco salientes e imbricadas	Escamas gruesas, salientes y menos imbricadas que en el hombre

DIFERENCIAS DE PELO HUMANO Y ANIMAL²³

Para diferenciar entre pelo animal y de humanos el signo más apreciable es el mayor desarrollo de la médula, que constituye la mayor parte del pelo; la sustancia cortical forma una especie de membrana más o menos delgada, lo contrario de lo que se encuentra en el cabello humano.¹⁸

La cutícula está formada por celdillas más aparentes que en la especie humana; tienen bordes salientes que dan al contorno del pelo un aspecto dentado. Para cada animal varía su aspecto; por simple comparación se puede determinar de qué animal proviene; en los peritajes es suficiente saber que no pertenece a la especie humana. Los cabellos pueden reconocerse por su longitud y diámetro, varían generalmente entre 0.05 y 0.10 mm. De tal manera que todo pelo que tenga más de este grosor probablemente no sea cabello humano.¹⁸

Para establecer a que persona pertenece, la única técnica directa consiste en determinar el perfil genético (ADN) en la raíz, en la fase del crecimiento (anágena o catágena). Asimismo, de la fracción medular se pueden determinar el parentesco por línea materna a través del ADN mitocondrial.¹⁸

5. GENÉTICA FORENSE

Su intervención es para determinar el perfil genético del presunto responsable a partir de las muestras de semen encontradas en la víctima o en manchas de sangre encontradas en el lugar de los hechos.

5.1 ANTECEDENTES DEL PERFIL DEL ADN.

En 1990 científicos estadounidenses, entre ellos Watson, iniciaron el *Proyecto del Genoma Humano*, cuyo objetivo era obtener una secuencia completa del ADN; en el año 2001 y con la ayuda de varios países, se publicó lo que podría ser la primera secuencia del genoma humano, en 2003, se presentó una nueva secuencias que contenía el 99% de la secuencia del genoma. A partir de estos estudios se conoce que el genoma humano contiene entre 30,000 y 35,000 genes y que sólo alrededor del 5% participa en la codificación para descifrar la información, mientras que el resto es hasta ahora desconocida.²⁴

Al demostrarse la relevancia biológica del ADN y su carácter polimérico (Watson y Crick 1953), fue necesario desarrollar métodos para conocer la secuencia de sus monómeros. Frederick Sanger fue quien desarrolló los dos métodos que extendieron a todo laboratorio de biología dando la posibilidad de secuenciar biomoléculas. Gracias a estos métodos, se demostró la colinearidad entre el ADN y la proteína (Guest y Yanofsky, 1966). La secuenciación de biomacromoléculas se usa para la verificación rutinaria de moléculas recombinantes hasta lograr el conocimiento del contenido genético total (genómica).²⁵

En 1985, Alec Jeffreys fue el primero en realizar estudios más detallados de las regiones de ADN, obteniendo un patrón de bandas parecido a un código de barras que denominó *huella digital del DNA o huella genética*.²⁴

Otro descubrimiento importante fue el de las enzimas de restricción (ERs). Las ERs existen de forma natural en los microorganismos y tiene la capacidad de cortar moléculas en sitios específicos. Con el descubrimiento de las ERs se fundaron las bases de la genética molecular, donde se analizan las características moleculares buscando patrones de corte (huella genética).²⁵

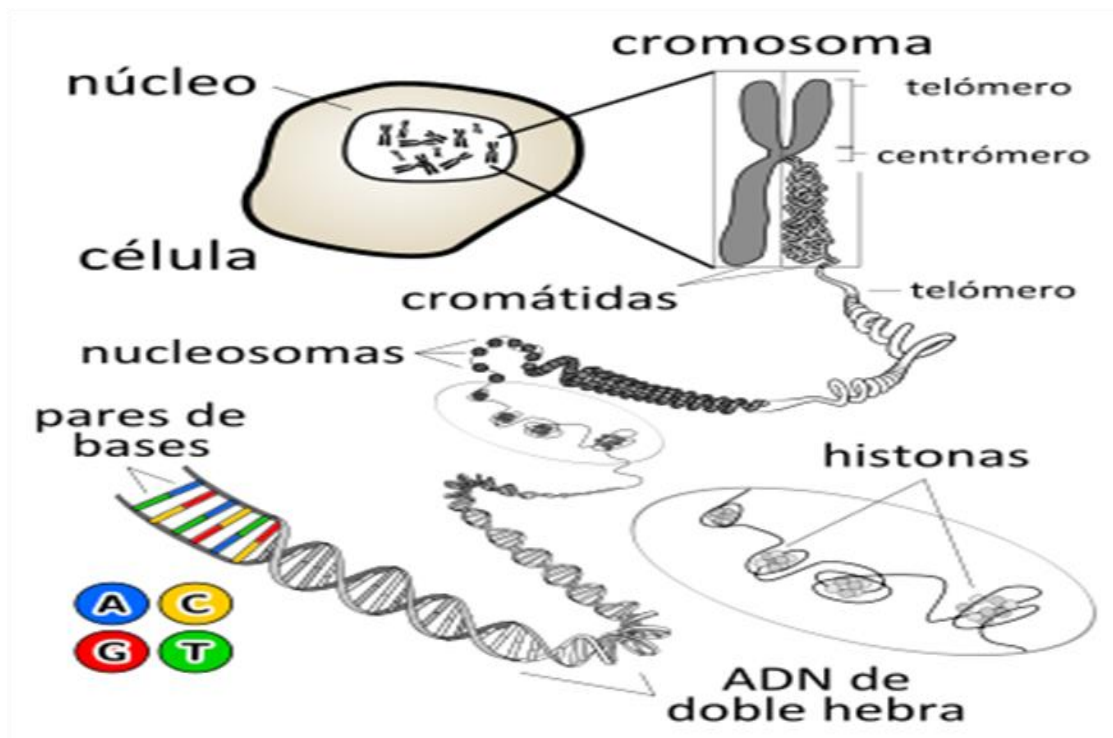
5.2 BASES MOLECULARES DEL ADN

Cada organismo posee un genoma que contiene la información biológica necesaria para construir y mantener otro ser viviente de ese organismo. La mayor parte de los genomas está constituida por el ácido desoxirribonucleico (ADN), a excepción de algunos genomas virales en los que la información genética se encuentra contenida en moléculas de ácido ribonucleico (ARN).²⁴

En las células eucariontes, las moléculas individuales del ADN se localizan en los cromosomas del núcleo y las mitocondrias. Las principales funciones de un genoma son la de almacenar la información genética a otra (replicación), permitir su expresión y su capacidad para sufrir cambios que lleven a su evolución.¹⁵

El ADN está formado por dos cadenas entrelazadas, cada una constituida por el ensamble de nucleótidos caracterizado por contener bases nitrogenadas de cuatro tipos: adenina (A), guanina

(G), citosina (C) y timina (T). Las diversas combinaciones de estos nucleótidos generan a los genes; cada uno de los cuales posee información distintiva que es copiada en el núcleo celular a moléculas monocatenarias de ácido ribonucleico mensajero (mRNA). Estas últimas viajan del núcleo hacia el citoplasma y los ribosomas descifran el mensaje que portan para construir la proteína correspondiente.²⁴



Estructura del ADN²⁶

Para cada gen hay dos copias o alelos, uno materno y otro paterno. El ADN se almacena en los cromosomas que se encuentran también en el núcleo celular; el sitio ocupado por un gen dentro del cromosoma se denomina *locus*. Los cromosomas se transmiten a cada hijo a través de las células reproductora (óvulo

y espermatozoide); las células humanas –con excepción de las reproductora- contienen dos juegos de 23 cromosomas provenientes de cada progenitor, de los cuales un par, constituido por un miembro de cada juego (los cromosomas sexuales X y Y), que determinan el sexo del individuo.²⁴

El gen es la unidad de la información genética. En eucariotas la mayor parte de los genes consiste de secuencias codificantes llamadas *exones*, separados por regiones no codificantes o *intrones*, cuando un gen va a ser expresado se transcribe a partir del ADN, a una copia de ARN de tira sencilla en donde la timina es reemplazada por un uracilo. Este transcrito primario de RNA con secuencias de intrones y exones se procesa para producir RNA mensajero (mARN), que contiene únicamente la secuencia de los exones. El mARN es una transcripción la secuencia génica completa que es procesado en el núcleo, generándose un mARN maduro que luego es transportado al citoplasma para su traducción. En el proceso se eliminan las secuencias no codificantes, se unen entre sí los exones generándose un mRNA maduro que es colinear a la secuencia de aminoácidos en la proteína.^{24 y 27}

En los eucariontes, además existen varios tipos de secuencias: únicas que codifican para polipéptidos (genes estructurales); repetidas, secuencias de longitudes variables repetidas cientos o miles de veces en el genoma. De ellas se conocen dos tipos ADN moderadamente repetido del que se encuentran de 10 a 10⁵ copias por genoma y ADN altamente repetido que se encuentra en

cantidades mayores a 10^5 copias por genoma, con secuencias sin función conocida.²⁷

El ADN moderadamente repetido constituye en el genoma humano alrededor del 30% de las secuencias, estas pueden ser dispersas o repetidas en tándem. Las secuencias dispersas formadas por alrededor de 500 pares de bases, existen alrededor de 500,000 en el genoma, se denominan elementos salpicados cortos (SINE, del inglés short interspersed nuclear elements). Dentro de ellas se encuentran las secuencias Alu (su nombre deriva del hecho de que la secuencia tiene un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción Alu I. Además existen secuencias salpicadas dispersas largas (LINE, del inglés long interspersed nuclear elements) formadas por 6,500 pares de bases de las cuales hay 40,000 en el genoma humano. Las secuencias repetidas en tándem codifican para las histonas; RNA ribosomal (rARN) subunidades 18 y 28 S, los genes que codifica para estas secuencias se encuentran en el brazo *p* de los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22; rARN subunidad 5S que se encuentra en el brazo *p* del cromosoma 1.²⁷

Además existen repeticiones en tándem salpicadas en el genoma de número variable (VNTR, del inglés, variable number of tándem repeats), formadas por entre 5 y 100 pares de bases sin función conocida. El número de copias en cada individuo varía formando regiones localizadas de entre 1,000 a 500 pares de bases de longitud, pueden estar dentro de los genes o entre los genes. Estas regiones son la base de la técnica forense de huellas moleculares de DNA, el cual es un patrón de bandas que se

-Codifica los rARN (ácido ribonucleico ribosómico), tARN y mARN mitocondriales. Una de las dos hebras contiene la mayoría de los genes.²⁹

-Dos de sus genes se solapan, con una pauta de lectura diferente (son los genes de la subunidad 8 de la ATPasa y el que codifica la subunidad 6).²⁹

-El código genético mitocondrial es ligeramente diferente al código nuclear.²⁹

-LA herencia del mtADN es citoplasmática. Un embrión hereda el ADN del núcleo del espermatozoide y del núcleo del óvulo, pero también el mtADN del citoplasma del óvulo. Las mitocondrias son, por lo tanto, transmitidas sólo por la madre.²⁹

5.3 POLIMORFISMO CROMOSÓMICO.

La palabra polimorfismo (poli, muchas; morfos, formas) refiere la variabilidad de un rasgo o característica. En genética, un locus se define como polimórfico cuando al menos 1% de los cromosomas en la población tienen una secuencia diferente a la mayor parte, aunque es importante destacar que esta definición refleja la existencia de variantes de un locus y no son consecuencias funcionales.³¹

5.3.1 Polimorfismo de un sólo nucleótido (SNP)

El polimorfismo más común en el genoma humano es la diferencia de una sola base conocido como polimorfismo de un sólo nucleótido (SNP del inglés, single nucleotide polymorphism), el cual ocurre aproximadamente cada 1 000 pb. Cada SNP tiene dos alelos posibles, por lo cual existe una alta probabilidad de que

todos los miembros de una familia resulten homocigotos para un SNP particular.³¹

La variabilidad fenotípica y la susceptibilidad o resistencia de cada individuo a distintas enfermedades se debe principalmente a los SNP.³¹

5.3.2 Polimorfismo en la longitud de secuencias simples (SSLP)

Secuencias minisátélites

Los polimorfismos de secuencias repetidas, son conocidos como VNTR-minisátelite. Estos presentan un número variables de repeticiones en tándem (VNTR del inglés variable number of tándem repeats). Las secuencias codificadoras del ADN humano, son, en general, muy similares entre individuos, mientras que por el contrario, las secuencias no codificadoras han sufrido grandes variaciones en el transcurso de la evolución. En esta parte no codificadora están las VNTR.^{28 y 31}

El ADN con polimorfismo de secuencias repetidas está asociado con la región heterocromática del cromosoma y en particular con el centrómero y es el resultado de una organización repetitiva dentro de los minisátélites y microsatélites, estas repeticiones de número variable tienen un tamaño de alrededor de 30 pares de bases, estos son increíblemente polimórficos (esto es que son muy variables entre individuos). Por lo que es muy utilizado en identificación forense.^{28 y 29}

En la actualidad, la mayoría de las técnicas de determinación del perfil genético utilizan secuencias muy cortas de ADN, que son las

microsatélites o repeticiones cortas en tándem, que se repiten una y otra vez y se encuentran ampliamente en el genoma humano.³³

6. HERRAMIENTAS EXPERIMENTALES PARA EL ANÁLISIS DEL ADN.

Para el análisis genético hay métodos que permiten separar macromoléculas y obtener segmentos con un tamaño manejable para la manipulación y el análisis de secuencias de ADN específicas. Por ejemplo, la descripción de las estructuras y las características de los pares de bases que forman el ADN y el ARN sentó las bases del desarrollo de las técnicas de hibridación y secuenciación que permitieron el análisis rápido y detallado de la estructura y la expresión de los genes.³²

6.1 Enzimas de restricción

Las enzimas de restricción reconocen como blanco a pequeñas secuencias de ADN de doble tira y las cortan; estas secuencias abarcan de 4 a 8 nucleótidos que son específicos para cada enzima. La medida del ADN cortado puede variar de 1 kilobase (Kb) a varias megabases (Mb), mientras el número de los diferentes fragmentos generados puede ir desde miles hasta millones. Existe una relación inversamente proporcional entre el tamaño de la secuencia que reconoce la enzima y el número de cortes que realiza en el genoma. Las enzimas de restricción usadas para la identificación de fragmentos del ADN son las endonucleasas, estas enzimas de restricción reconocen específicamente la secuencia y corta exactamente en el sitio de restricción.^{24 y 32}

DNAasa es una endonucleasa de origen bovino con una capacidad de cortar la molécula de ADN de doble cadena (o de cadena simple) al azar, generando así mezclas de oligonucléotidos.²⁹

Taq polimerasa es una ADN polimerasa aislada de bacterias que viven en fuentes de agua caliente. Actúa a una temperatura cercana a los 65° C. Esta propiedad es útil en las reacciones en las que es necesario utilizar una ADN polimerasa termoestable, como, por ejemplo, en la técnica de amplificación del ADN llamada PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Puede ser utilizada también en las técnicas de secuenciación del DNA, puesto que permite trabajar a temperaturas elevadas, a fin de evitar estructuras secundarias.²⁹

6.2 Análisis de restricción.

La mayoría de las moléculas de ADN naturales es mucho más grande del tamaño que puede manejarse o analizarse con facilidad en el laboratorio. Los cromosomas son moléculas únicas de ADN muy extensas que pueden contener miles de genes. Para estudiar genes individuales y sitios específicos en la molécula de ADN, las grandes moléculas de ADN se deben dividir en fragmentos manejables, proceso llevado a cabo por endonucleasas de restricción, que son enzimas que escinden las moléculas de ADN en sitios determinados por medio del reconocimiento de secuencias específicas. Gran parte del análisis molecular de los genes y su función requiere la separación de segmentos específicos de ADN a partir de moléculas mucho más grandes y de

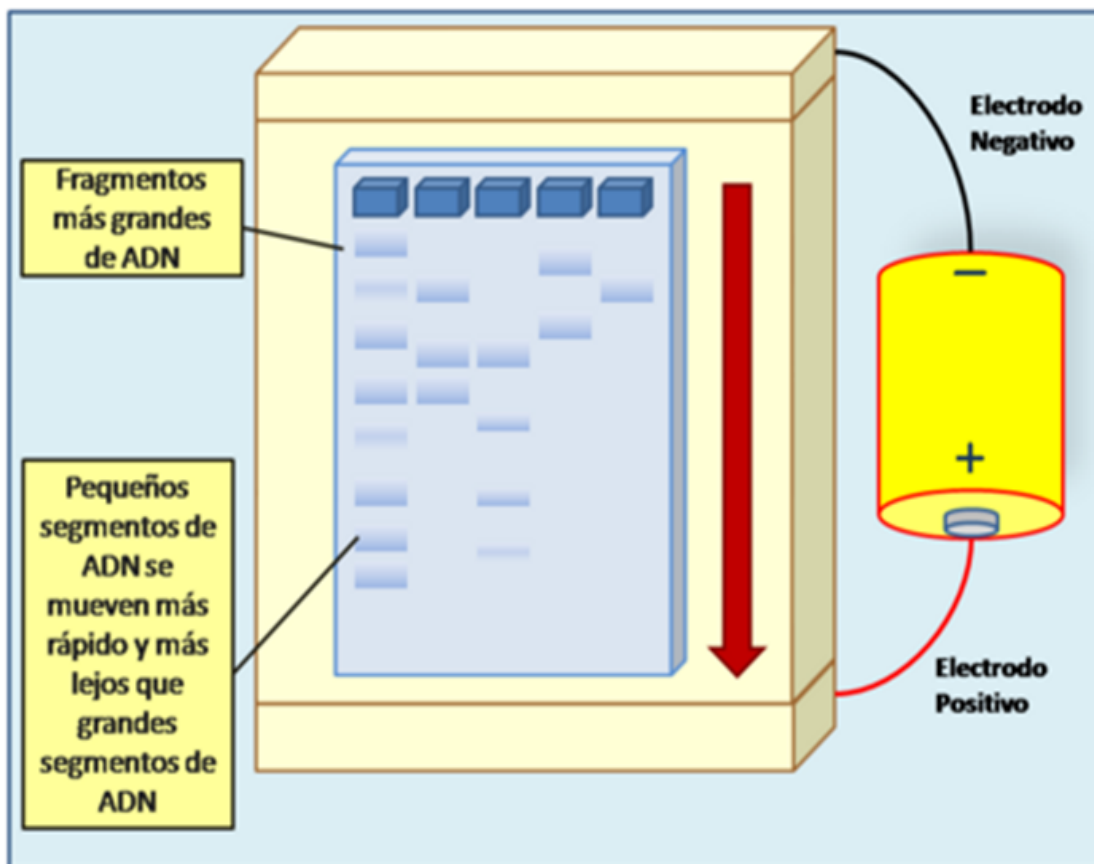
su amplificación selectiva. Esto permite el análisis de la información codificada en cada molécula de ADN específica. Por lo tanto, es posible determinar la secuencia de ADN o llevar a cabo su expresión y el estudio del material obtenido a partir de él.^{32 y 33}

6.3 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. A pH alcalino las moléculas de ADN poseen una carga negativa uniforme por unidad de masa, lo que hace que su movilidad sea hacia el polo positivo y que esté determinada por el tamaño de las moléculas (número de pares de bases). Debe destacarse que los cromosomas eucariotas son demasiado grandes para ser identificados por este tipo de análisis por lo que comúnmente se aplica ADN fragmentado con endonucleasas.³⁴

La separación de los fragmentos de ADN de doble cadena se realiza por electroforesis en gel de agarosa o en gel de poliacrilamida. En ambos casos, el gel se prepara con distintas concentraciones en función del tamaño de los fragmentos del ADN que se quiere separar. Las moléculas de ADN compuestas por hasta 2000 nucleótidos por lo general se separan por electroforesis en gel de poliacrilamida y las de 500 nucleótidos y hasta 20 Kb en gel de agarosa. Modificando la concentración de acrilamida o agarosa se consigue obtener una mejor resolución de los fragmentos separados.³⁴

Después de finalizada la electroforesis, es posible detectar las moléculas de ADN por medio de la tinción del gel con colorantes fluorescentes, como bromuro de etidio, que se une al ADN y se intercala entre las bases apiladas. Cada banda revela la presencia de una población de moléculas de ADN que poseen un tamaño específico.³⁴



Electroforesis³⁵

6.4 Secuenciación.

EL ADN, ARN y las proteínas contienen la información genética en todas las células y los tres son polímeros lineares. El objeto de la

secuenciación es conocer el orden que tiene los monómeros de estas moléculas.²⁵

El método diseñado por Sanger (1988), este método usa nucleótidos modificados con la ausencia del extremo 3'OH, que es esencial para la polimerización del ADN polimerasa, cuando a este se incorpora un dideoxinucleótido queda un trozo incompleto de ADN que puede ser separado electroforéticamente. Cada monómero de ADN (adenina, guanina, citosina y timina) se marcan con una molécula fluorescente diferente, de esta manera se puede determinar el orden de los nucleótidos.²⁵

6.5 Hibridación.

Esta técnica es la más versátil para el análisis de genomas tan complejos como el humano y la identificación de cambios sutiles en cada secuencia de un fragmento de ADN o ARN. Los ácidos nucleicos en solución interactúan con superficies sólidas y pueden llegar a adsorberse en ellas. Estas superficies regularmente son membranas de nitrocelulosa o nylon, esta interacción no ha sido del todo explicada, pero se plantea la hipótesis que son de tipo no covalentes e hidrofóbicas o de cargas parciales entre las moléculas y la superficie.²⁵

La electroforesis de ADN puede realizarse en geles de agarosa o poliacrilamida, ambos tienen características diferentes por lo que utilizar uno u otro estará en función de lo que se esté trabajando. El gel de agarosa es el más utilizado para separar y purificar fragmentos de ADN, el gel de agarosa tiene un límite superior de 40-50 Kb en el tamaño de las moléculas de ADN que puede

separar, este rango de tamaños es ideal para analizar producto de digestiones con enzimas de restricción, lo que puede combinarse con otras técnicas como Southern Blot, así como para analizar los productos de una reacción de PCR.³²

Con los ácidos nucleicos las interacciones se pueden hacer covalentes con luz ultravioleta.²⁵

Muchas técnicas dependen de la especificidad de la hibridación entre dos moléculas de ADN con secuencias complementarias. Por ejemplo, este método permite identificar las secuencias específicas dentro de compuestos complejos de ácidos nucleicos. En este caso, una de las moléculas es una sonda con una secuencia conocida (sea un fragmento purificado o una molécula de ADN sintetizada por métodos químicos). Se emplea la sonda para buscar la molécula con secuencia complementaria dentro de compuestos formados por ácidos nucleicos. La sonda de ADN debe de estar marcada para localizarla de inmediato una vez que se encuentre la secuencia buscada.³²

Si la “sonda” se marca con radiactividad o grupos antigénicos (capaces de interactuar con anticuerpos), se obtendrán manchas oscuras en la zona de hibridación si se le exponen a una placa fotográfica, este patrón de manchas indicará la presencia de la molécula y dará información sobre su tamaño, frecuencia y abundancia en la muestra. La técnica original es conocida como Southern Blot.²⁵

Si en vez de ADN se coloca ARN desnaturalizado con formaldehído, se le denomina Northern Blot. Si en la membrana se coloca una

proteína desnaturalizada, el método se conoce como Western Blot.²⁵

6.6 Southern blot

Este método visualiza fragmentos específicos de DNA y de manera clásica consiste de varios pasos:

- **Digestión de ADN** mediante enzimas de restricción para generar fragmentos de ADN de diferentes tamaños, lo que resulta en una escalera de fragmentos distribuidos a lo largo del gel.
- **Electroforesis**, Separación, en un campo eléctrico de los fragmentos del ADN digerido.
- **Transferencia**, previa desnaturalización del ADN, a una membrana de nylon.
- **Hibridación**, donde se ponen a aparear con sondas marcadas; dichas sondas son segmentos de ADN que reconocen, mediante complementariedad de bases, regiones específicas.
- **Autorradiografía** que hace evidente el patrón de bandas y que consiste en exponer la membrana de nylon (ya hibridada) a una película sensible.²⁴

6.7 Técnicas de amplificación.

En la actualidad, la mayoría de las técnicas para la determinación del perfil genético utilizan secuencias muy cortas de ADN, denominadas microsatélites o repeticiones cortas en tándem (STR, por sus siglas en inglés), que son secuencias muy cortas de ADN que se repiten una tras otra y que se encuentran ampliamente en el genoma humano. Las personas presentan grandes variaciones en el número de copias de estas repeticiones. Los microsatélites se detectan por PCR mediante el empleo de cebadores que flanquean las repeticiones microsatélites, de modo que se amplifican el fragmento de ADN que contienen las secuencias repetidas. La longitud del segmento amplificado depende del número de repeticiones; el ADN proveniente de una persona con más repeticiones producirá un segmento amplificado más largo en comparación con el de una persona con menos repeticiones.⁴⁰

El método más utilizado para amplificar segmentos específicos de ADN, fuera de una célula es la PCR, los fragmentos amplificados por estos se separan mediante electroforesis en gel y se tiñen; a continuación se observa la producción de una serie de bandas. Cuando se examinan varios loci diferentes con microsatélites, la probabilidad de que dos personas tengan el mismo grupo de patrones se hace muy pequeña, a menos que se trate de gemelos.³⁶

6.8 Reacción en cadena de la polimerasa.

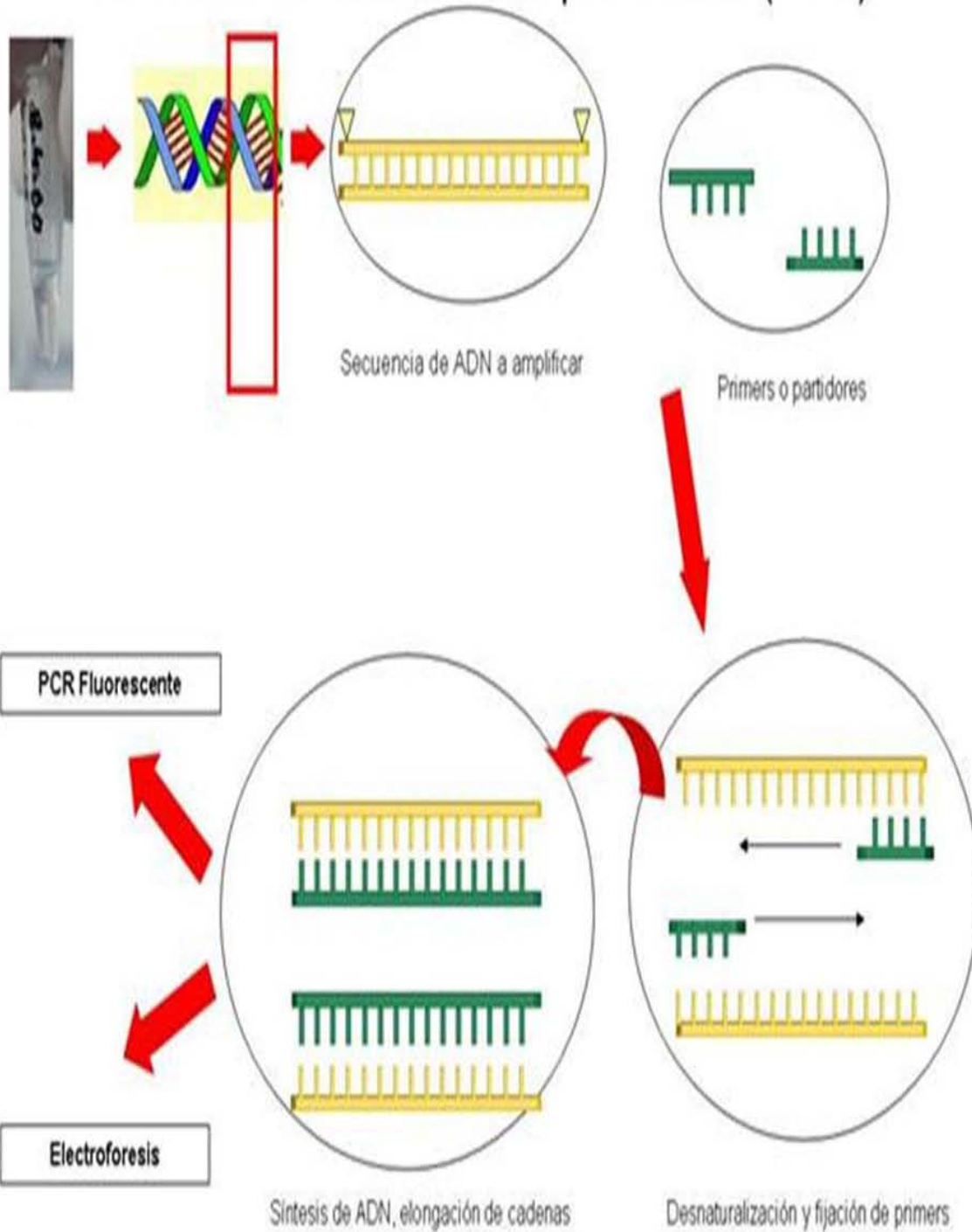
Este método permite amplificar o generar millones de copias de una secuencia de ADN o ARN, En 1985 Kary Mullis concibió la PCR como un método *in vitro* para la síntesis enzimática de secuencias específicas de ADN. Utilizó un par de oligonucleótidos (primers) que sirven de cebadores para la síntesis del segmento y que además limitan la región de interés al hibridar en los extremos de las tiras complementarias del ADN a caracterizar.²⁴

La reacción en cadena de la polimerasa se realiza en tres pasos: La desnaturalización del ADN a 95° C, hibridación y replicación a una temperatura de 72° C temperatura en la que es activa la Taq polimerasa además se incluyen una etapa previa a estas tres en temperaturas elevadas para inactivar proteasas y nucleasas y asegurar la completa desnaturalización del DNA y una posterior para prolongar la elongación y se completen todos los fragmentos que se desean amplificar.^{24 y 32}

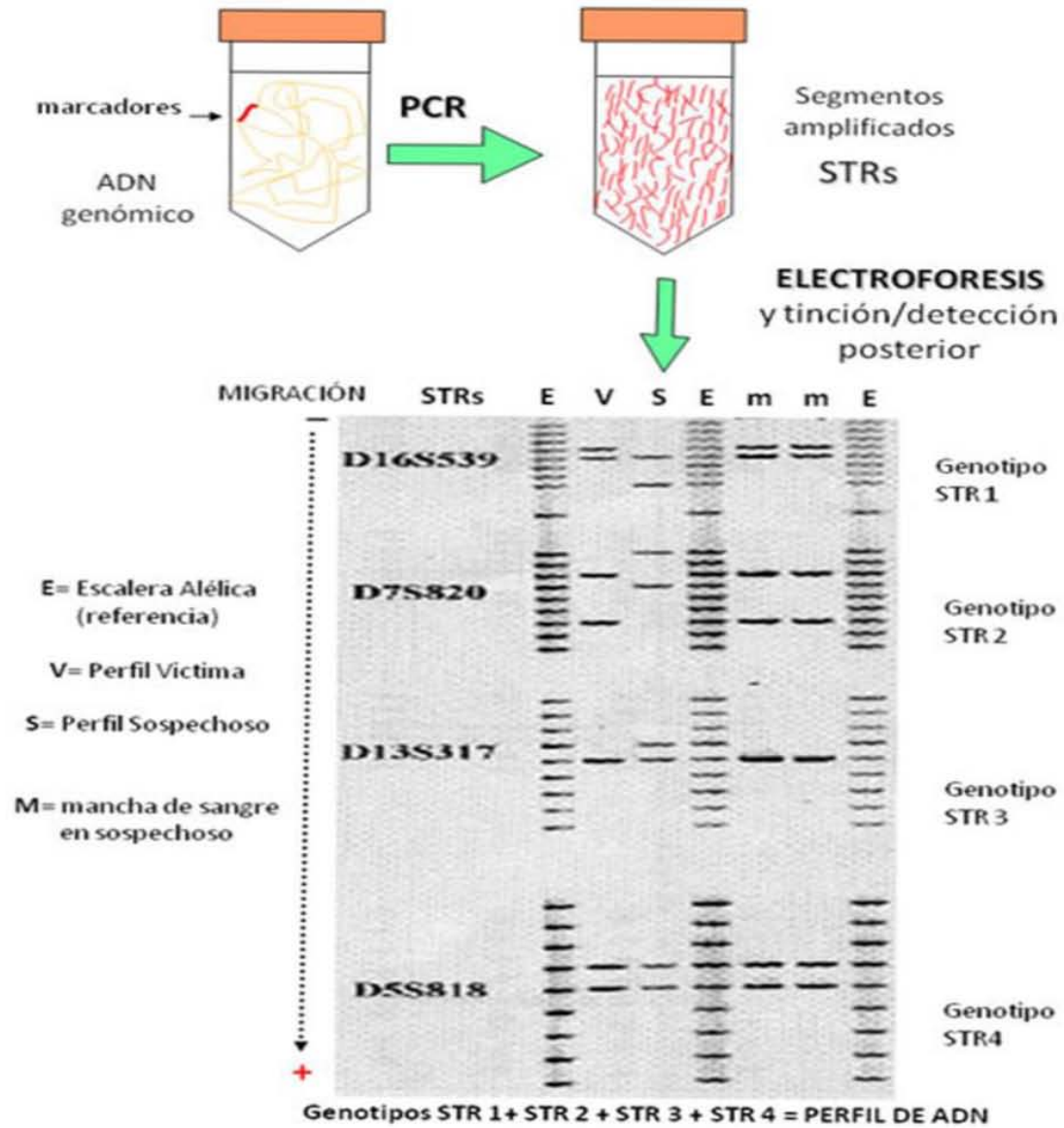
A partir de estos pasos se generan dos oligonucleótidos monocatenarios sintéticos, uno complementario con la secuencia del extremo 5' de una cadena del ADN que se va amplificar y el otro complementario con el extremo 5' de la otra cadena. Entonces, el ADN que se va amplificar se desnaturaliza y los oligonucleótidos se unen con sus secuencias complementarias. En este momento se agregan a la reacción los sustratos ADN polimerasa y desoxinucleótidos, y la enzima extiende los cebadores. Esta reacción produce ADN. Por lo tanto, en este primer ciclo de la reacción de PCR se obtienen dos copias bicatenarias del fragmento original de ADN.³²

Luego el ADN se somete a otro ciclo de desnaturalización y síntesis con los mismos cebadores para obtener cuatro copias del fragmento evaluado. De esta manera, la realización de ciclos nuevos de desnaturalización y síntesis de ADN dirigida por el cebador amplifica la región entre los dos cebadores en forma geométrica (2, 4, 6, 16, 32, 64, etc.). De esta manera, un fragmento de DNA que primero estaba presente en cantidades muy escasas se amplifica hasta obtener una cantidad relativamente grande de ADN.³²

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)



Técnicas de Identificación de ADN en las Ciencias Forenses³⁸



PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Los delitos contra la libertad sexual hoy en día requieren de una especial atención por parte de la autoridad competente, ya que es un abuso que marca sensiblemente a la víctima y se demanda la aplicación de ley, para esto se debe esclarecer con pruebas irrefutables que den una demostración plena de que existe el delito.

Por lo anterior el papel del perito en el laboratorio químico-biológico es aportar elementos de juicios objetivos en la investigación de estos, con base en comprobaciones químicas y biológicas sustentadas científicamente.

De esta manera el laboratorio forense constituye uno de los pilares dentro de la criminalística indispensables para una conclusión en el esclarecimiento de los hechos. Existen una serie de técnicas para la identificación de presuntos responsables, dentro de ellas las más importantes es la terminación del ADN que permite vincular o no a un sospechoso o sospechosos con los indicios biológicos obtenidos en el lugar de los hechos.

METODOLOGÍA

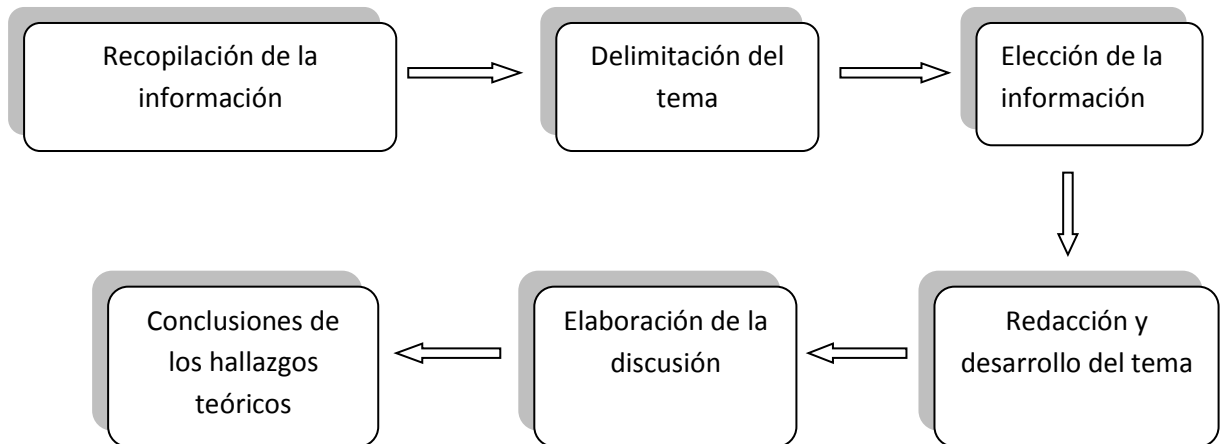
OBJETIVOS.

Confirmar que a través de los exámenes de laboratorio puede o no existir una vinculación entre víctima y acusado en un caso de violación sexual.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

Se realizará un diseño donde todas las fuentes para el estudio sean documentales, como libros, revistas y manuales para la obtención de información referentes al tema.

PROCEDIMIENTO



DISCUSIÓN

El avance biotecnológico que se ha producido en esta últimas dos décadas y que han hecho posible el estudio de indicios dejados en la escena del crimen, permiten al médico y químico forense analizar desde la saliva dejada en una colilla de cigarro hasta un pelo o los escasos restos epiteliales restantes en unas uñas tras un arañazo, son hoy valiosas pruebas que pueden por sí solas arrojar la información suficiente para identificar a un sospechoso.

Entre todos los tipos de agresiones violentas, las sexuales son especialmente propensas de estudios de vestigios biológicos ya que implican siempre un contacto físico entre la víctima y su agresor y consecuentemente, un intercambio de materiales tales como pelos, fibras y fluidos biológicos, siendo los más frecuentes los restos de semen y saliva.

La utilización de la prueba de polimorfismos de ADN en medicina forense es confiable para establecer consanguinidad o parentesco y sirve como huella biológica para identificación de personas en la escena de crimen u otro acto. Su uso es formalmente utilizado en los sistemas de justicia de las naciones desarrolladas y en México ha sido aceptada durante la década de 1990.

Hay mucha certeza sobre la validez y seguridad de la prueba de ADN para demostrar la vinculación en delitos, como hemos constatado en la revisión bibliográfica de las pruebas científicas

que lo demuestran. Y se observa que el avance de la tecnología hace que cada vez esta prueba sea más certera en sus conclusiones.

Es importante mencionar que desde los exámenes de presunción hasta la confirmación de una muestra, es de suma importancia la recolección, preservación, embalaje y la cadena de custodia ya que es posible llevar a cabo un buen examen de laboratorio si la muestra proporcionada es adecuada y creo que en ese sentido todavía falta mucha sistematización para estos primeros pasos, ya que estos aportarán un buen indicio que nos ayude en el esclarecimiento de los hechos.

CONCLUSIONES

En los casos en los que haya que recoger las evidencias, todos los indicios de origen biológico presentes, debe hacerse en condiciones de máxima limpieza o esterilidad, almacenándolos independientemente y adecuadamente identificados en cuántos recipientes estériles sea necesario y manteniéndolos custodiados en refrigeración, hasta recibir las instrucciones oportunas por parte de las Autoridades Judiciales.

La cuidadosa y adecuada toma de muestra o colecta de indicios biológicos permite no sólo llevar a cabo un buen análisis de estos, también permite demostrar la autenticidad de los mismos.

Durante el análisis de los indicios, en especial a una probable muestra de semen, al realizar las pruebas de fosfatasa alcalina, antígeno prostático y la observación directa en la muestra de espermatozoides nos acercan a una prueba probable de abuso sexual tras verificar la presencia de semen, sin embargo su hallazgo, es sólo de presunción y sólo podrán apoyar o descartar un probable abuso. Por otro lado cuando hay una confirmación de abuso sexual sólo la prueba de ADN podrá darnos la identidad del agresor.

El desarrollo científico ha permitido la introducción de la tecnología del ADN en la investigación forense, posibilitando el estudio de indicios biológicos mínimos, hecho que unos pocos

años atrás era imposible. El perito Médico Forense se encuentra en una posición privilegiada para recoger algunos vestigios que por su fragilidad pueden alterarse o perderse como consecuencia de una actuación retrasada, permitiendo su estudio y la resolución del caso, con las consecuencias beneficiosas que de ello se derivarían.

Actualmente las técnicas en el laboratorio forense han marcado una diferencia enorme en el esclarecimiento de crímenes que involucran la libertad sexual, ya que al poder analizar manchas de esperma, pelos, cabellos, saliva, manchas de sangre, aún en cantidades muy pequeñas, se pueden aportar datos de gran valor sobre la individualidad del indicio, las diferentes técnicas de polimorfismo del ADN han permitido conectar un indicio biológico entre la víctima y su agresor, las diferentes técnicas para analizar ADN son claves para darle identidad a una muestra de la misma, dando como resultado que sea una prueba legal.

Las diferentes técnicas para analizar ADN en conjunto nos permiten individualizar a una persona hoy en día con mucho más éxito que una sola de ellas, dando como resultado una prueba legal irrefutable

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Díaz DLMA. Código Penal para el Distrito Federal. 2ª edición. México: Porrúa; 2002
2. Grandini GJ. Medicina Legal. 2ª edición. México: Manual Moderno; 2009
3. Moreno GLR. Los indicios biológicos del delito. 3ª edición. México: Ubijus INACIPE. 2011
4. Montoya D, Díaz R. Peritaje Médico Legal en delitos sexuales: una pauta práctica para su correcta realización. Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología. [Revista on-line] 2004; 69(1):55-59
Disponible en: www.scielo.cl
5. Prieto RCV. El estudio de las agresiones sexuales en el laboratorio de biología. España: gep-isfy; 2004
6. Vargas AE. Medicina Legal. 1ª edición. México: Trillas; 1996
7. Diario Oficial de la Federación. Código Penal Federal. Libro segundo, capítulo I, violación, art. 265: México; junio 2012
8. Alva RM. Compendio de Medicina Forense. México: Méndez editores; 1999
9. Franco DAM. Hematología Forense. 3ª edición. México: Porrúa; 1999
10. Procuraduría General de la Republica. Protocolos de Cadena de Custodia. México: Instituto Nacional de Ciencias Penales [INACIPE]; 2013
11. Acuerdo A/078/12 de la Procuraduría General de la República, por el que se establecen las directrices que deberán observar los servidores públicos para la debida preservación y procesamiento del lugar de los hechos o del hallazgo y de los indicios, huellas o vestigios del hecho delictuoso, así como de los instrumentos, objetos o productos del delito. Documento Oficial de

la Federación 23 de Abril 2012. Diario Oficial de la Federación.(5/04/2012)

12. King SS., Schaub DLM. Análisis de orina y líquidos corporales. 5ª edición. México: Panamericana; 2010

13. Knigh B. Medicina Forense de Simpson. México: Manual Moderno; 1997

14. Calderón PRV, Stock SPR, Inmunoquímica. [Monografía internet]. México. UNAM: Instituto de Biotecnología; 2007. Disponible en: <http://www.ibt.unam.mx>

15. Dongmei CMS., Naftel PJ. Histología con correlaciones funcionales y clínicas. 1ª Edición. España: Wolters Kluwer; 2011

16. Ruiz AGJ. Fundamentos de Hematología. 5ª edición. México: Panamericana; 2014

17. Facultad de Medicina. Departamento de Ciencias Morfológicas. Venezuela: [En línea] Citado 08-October-2012 www.medic.ula.ve/histología/anexos/atlas/12/sangre.htm

18. Martínez MS., Saldívar SL. Medicina Legal. México: Méndez Editores; 2012

19. Pierce AB. Fundamentos de Genética. 1ª edición. Buenos Aires: Panamericana; 2011

20. Bonilla EC. Manual de Técnica Policial. Buenos Aires: Editorial Universidad; 1992

21. Jiménez CE. Manual de Técnicas de Biología Molecular Básica. México: Editorial Prado; 2004

22. Monografía. Estudio Forense del Pelo. [En línea] Citado 28-Mayo-2009 www.monigrafia.com/trabajo10/pelo.shtml

23. Principios de identidad.blogspot.mx. [En línea] Citado 2008 <http://principio de identidad.blogspot.mx>.

24. Guizar VJJ. Genética Clínica diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias. 3ª edición. México: Manual Moderno; 2001

25. Peña CJM, Ramírez G, Barrera FE. Los Métodos experimentales que permiten el estudio de las macromoléculas de la vida: historia, fundamentos y perspectiva. Revista Profesores al día (Bioquímica).[Revista on-line] 2013 [Consultado 13 de marzo 2013]
26. Wikimedia Commons. Cromosome. [En línea] Citado 17-Mayo-2013
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cromosome_es.svg
27. Rodríguez AR. Castañeda SA. Ordaz TMG. Conceptos Básicos de Genética. 2ª edición. México: Las prensas de ciencia; 2009
28. Checa CMA. Polimorfismos genéticos: importancia y aplicaciones. Revista INER. Julio-Septiembre 2007;(20)3:213-221
29. Étienne J. Bioquímica Genética, Biología Molecular. 1ª edición: España; 2001
30. Albarellos AL. Identificación humana y bases de datos genéticos. 1ª edición. México: Ubijus INACIPE; 2009
31. Mas OJ. Diagnóstico Molecular en Medicina. México: Manual Moderno; 2004
32. Watson DJ., BAKER at. Biología Molecular del Gen. 5ª edición. España: Panamericana; 2006
33. Krebs EJ., Goldstein E., Kilpatrick TS. Lewin's Genes X. 1a edición. USA: Jones and Bartlett Publisher; 2011
34. Jiménez CE. Manual de Técnicas de Biología Molecular. 1ª edición. México: Prado; 2004
35. La Enciclopedia Libre. México: [En línea] Citado 30-Marzo-2013 creation.wiki.org/es/Electroforesis_en_gel
36. APB. Fundamentos de Genética. 1ª edición. Buenos Aires: Panamericana; 2011
37. Cirrosis. Análisis de PCR en la cirrosis. [En línea] Citado 30-Mayo-2015 danielalulema.blogspot.mx/2015/05/tema-estudio-de-la-expresion-del.html

38. DNA-Profile. Expertos en paternidad.la prueba de paternidad con ADN [En línea] Citado en 2015 dnaprofile.com.mx
39. Indicios Biológicos. [En línea] <http://es.slideshare.net>
40. Esperma. [En línea]
<http://biologíafotosdibujosimagenes.blogspot.mx>
41. Frotis de Esperma. [En línea] <http://www.scielo.cl/scielo>.
42. Guía para la elaboración de citas bibliográficas, según el estilo Vancouver: Perú: Universidad de Piura; 2011