

APLICACIONES FORENSES DEL ADN

Lourdes Prieto Solla

Comisaría General de Policía Científica
Laboratorio de ADN

INTRODUCCIÓN

Actualmente la pericia genética realizada sobre restos biológicos es una actividad rutinaria en el entorno forense. El análisis de muestras involucradas en ciertos delitos puede ayudar a esclarecer cómo ocurrieron los hechos o quienes intervinieron en los mismos. Asimismo, la aplicación de técnicas moleculares en la identificación de cadáveres ha permitido resolver aquellos casos que no podían solventarse mediante técnicas clásicas de identificación (huella dactilar, ficha dental, etc).

Este tipo de pericias se caracteriza por su objetividad, ya que se basan en fundamentos científicos plenamente demostrados y validados. Los resultados que se obtienen en el análisis de evidencias en un laboratorio, por tanto, han de coincidir plenamente con los obtenidos en otros diferentes, si todos son científicamente rigurosos y cumplen con las condiciones de calidad. En este sentido es de gran importancia asegurarse de que la pericia se realiza en un laboratorio debidamente acreditado.

Si bien actualmente la identificación genética es una de las pruebas más importantes al servicio de la Justicia, hemos de reconocer que una de las principales limitaciones que tiene es el factor tiempo. A diferencia de otras pruebas de carácter identificador de gran relevancia en épocas anteriores (como la huella dactilar), el análisis de ADN no ofrece resultados con la rapidez deseada, pues los protocolos exigen unos tiempos mínimos en el tratamiento de las muestras. Sin embargo, hemos asistido a una gran evolución de la genética molecular en las últimas décadas y por ello no debemos descartar que algún día quizá la «prueba del ADN» sea prácticamente inmediata. Así lo deseamos todos los que nos dedicamos a tan interesante especialidad.

BREVE INTRODUCCIÓN AL CONCEPTO, TIPOS Y VARIABILIDAD DE ADN

Para entender cómo se realizan los análisis moleculares con fines identificadores y cómo se interpretan los resultados introduciremos brevemente y de la manera más sencilla posible el concepto de ADN (ácido desoxirribonucleico), los tipos de ADN que podemos estudiar y cómo varía entre los individuos.

La molécula de ADN se localiza dentro de la mayoría de las células que forman los diferentes tejidos de un individuo. Se trata de una molécula muy larga compuesta por unos 3000 millones de unidades llamadas nucleótidos. La forma más sencilla de pensar en una molécula de ADN es imaginar una larga cadena formada por 3000 millones de eslabones (nucleótidos). Dentro de cada célula, la mayor parte del ADN se encuentra en un compartimento denominado núcleo, separado del resto (citoplasma) por una membrana llamada nuclear. La cadena de ADN se encuentra empaquetada, formando unas estructuras denominadas cromosomas (figura 1). En los humanos existen 23 pares de cromosomas, 22 de ellos denominados autosomas y el par restante corresponde a los cromosomas sexuales. En las mujeres este par está formado por dos cromosomas similares denominados X (par XX) y en los varones está compuesto por un cromosoma X y un cromosoma Y (par XY). El ADN cromosómico (tanto autosómico como sexual) se llama ADN nuclear (ADNn) y existen únicamente 2 copias del mismo en cada célula (simplificando, una procedente del padre y otra procedente de la madre).

En genética forense se estudian fragmentos de ADN que están situados tanto en los autosomas como en los cromosomas sexuales (XY). Dado que el cromosoma Y sólo existe en varones, es importante conocer cómo se hereda; todos los individuos varones emparentados por línea paterna comparten el cromosoma Y (casi en su totalidad) pues se hereda directamente de padres a hijos sin mezclarse con ningún material procedente de la madre (figura 2A). Por tanto, no es posible identificar individuos mediante el estudio de su cromosoma Y, sólo es posible identificar linajes paternos.

Además del ADN nuclear existe otro tipo de ADN denominado ADN mitocondrial (ADNmt) mucho más corto (unos 16500 eslabones) localizado dentro de unos orgánulos celulares llamados mitocondrias presentes en el citoplasma. Existen numerosas mitocondrias en cada célula y varias copias de ADNmt en cada mitocondria, es decir, existe mayor cantidad de copias de ADNmt que de ADNn por célula. Este hecho hace que en muestras forenses muy críticas (con escasa cantidad de ADN o con ADN en mal estado) tenga más éxito el análisis de ADNmt que el estudio de

ADNn. Sin embargo, el ADNmt presenta un peculiaridad, se hereda única e íntegramente de la madre, es decir, todos los individuos relacionados familiarmente por vía materna presentan idéntico ADNmt (figura 2B). Por tanto no permite la identificación de individuos, sino de líneas familiares maternas.

Los eslabones que forman la cadena de ADN pueden ser de cuatro tipos, por ejemplo podemos imaginar que son de cuatro colores diferentes (hay cuatro tipos de nucleótidos llamados Adenina o A, Timina o T, Citosina o C y Guanina o G). El orden o secuencia de estos tipos de eslabones a lo largo de toda la cadena es prácticamente igual en todos los humanos pero existen algunas zonas de la cadena que difieren de unos individuos a otros. Estas zonas llamadas polimórficas son las que nos interesan en genética forense para poder diferenciar unas muestras de otras. Por tanto, no es interesante analizar la molécula de ADN completa, principalmente por dos razones: (i) tardaríamos mucho tiempo y (ii) la mayor parte de la molécula es común en todos los humanos y no podríamos distinguirlos.

A cada fragmento variable de ADN que estudiamos en identificación genética lo denominamos marcador, sistema o locus (loci, en plural) y los alelos son las variantes («posibilidades») que tiene cada uno (figura 3). Cada marcador tiene un nombre propio que suele hacer referencia a su localización dentro de la molécula de ADN; por otro lado, la mayoría de los alelos de cada marcador se representan con números (tabla 1).

MARCADOR	ALELOS DETECTADOS EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA
HUMTH01	5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10 y 11
CSF1PO	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15
D8S1179	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18

TABLA 1. Ejemplos de marcadores utilizados en genética forense y sus alelos en población española.

Cada individuo hereda un alelo de su madre y otro de su padre. Si los alelos heredados en un marcador concreto coinciden diremos que el individuo es homocigoto y si difieren se tratará de un heterocigoto (figura 4). Así, un individuo que herede de ambos progenitores el alelo 7 en el marcador TH01 será homocigoto 7-7 y otro que herede el alelo 7 de su madre y el 9 de su padre, será heterocigoto 7-9.

Como puede suponerse hay que analizar varios marcadores en una muestra para poder identificarla pues dos muestras distintas pueden coincidir por simple azar en los alelos de un marcador. A mayor de número

de marcadores analizados, mayores posibilidades de distinguir dos muestras sin error. El perfil genético de un individuo o de una evidencia es la sucesión de los alelos que presenta en cada marcador (tabla 2).

MUESTRA	TH01	TPOX	CSF1PO	D3S1358	VWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820	SEXO
1	6-9.3	8-11	10-10	16-16	16-17	20-21	10-13	30-30	14-15	12-12	10-11	10-10	XY

Tabla 2. Perfil genético de una muestra biológica

Actualmente se estudia un número suficiente de marcadores para distinguir unas muestras de otras. La mayoría de laboratorios forenses utilizan los mismos marcadores con el fin de intercambiar datos sin tener que reanalizar las muestras.

CONCEPTO DE MUESTRAS DUBITADAS E INDUBITADAS

Para que una pericia genético biológica sea concluyente es imprescindible desarrollar el análisis en dos tipos de muestras:

- a) Muestras dubitadas o evidencias: son restos biológicos de procedencia desconocida, es decir, no sabemos a quién pertenecen (por ejemplo las muestras recogidas en la escena del delito o de un cadáver sin identificar).
- b) Muestras indubitadas o de referencia: son restos biológicos de procedencia conocida, es decir, sabemos a quién pertenecen (por ejemplo la sangre tomada de un cadáver identificado, o las muestras tomadas a familiares de un desaparecido).

La analítica de ADN se ha denominado en múltiples ocasiones «huella genética»; este término no debe llevarnos a confusión pues, si bien es verdad que cada individuo presenta un ADN diferente (como en el caso de las huellas dactilares), no existe una base de datos formada por las características genéticas de cada individuo que vive en España (a diferencia de la huella dactilar, de la cual existe un registro del índice derecho de todas las persona con DNI). Por este motivo, sólo podremos identificar las evidencias biológicas si disponemos de muestras de referencia para su comparación.

Los tipos de muestras dubitadas más frecuentemente analizadas por técnicas genético moleculares son (figura 5): sangre (habitualmente en forma de mancha), semen (lavados vaginales o manchas sobre prendas de la víctima), saliva (colillas de cigarrillo, chicles, sobres y sellos), pelos,

uñas, tejidos blandos, restos óseos y dentarios (estos últimos relacionados fundamentalmente con la identificación de cadáveres).

El tipo de muestras indubitadas más habituales son sangre y saliva (frotis bucal). No es necesario que las muestras de referencia sean del mismo tipo que las evidencias, es decir, podremos comparar distintos tipos de restos biológicos entre sí ya que el ADN es igual (salvo excepciones) en todos tejidos de un mismo individuo.

Podemos diferenciar tres etapas principales en el análisis de una muestra forense (figura 6): (i) pruebas preliminares para determinar la naturaleza y el organismo de procedencia de la muestra; (ii) análisis del ADN presente en la muestra con fines identificadores y (iii) análisis e interpretación de los resultados obtenidos.

PRUEBAS PRELIMINARES EN LAS PERICIAS GENÉTICO-BIOLÓGICAS

Antes de realizar un estudio de ADN con el fin de individualizar las evidencias existen pasos previos en la analítica que nos permiten discriminar el tipo de resto biológico ante el que nos encontramos. Ello se logra a través de las pruebas preliminares, que si bien son más sencillas que el propio análisis del ADN presente en una muestra, no por ello son menos importantes. El peso de la evidencia varía según se trate de un tipo de resto biológico u otro, es decir, no es lo mismo hallar una mancha de sangre (que puede implicar lucha) que un filtro de cigarrillo (que simplemente puede indicar la presencia de un individuo en la escena del delito, pero no necesariamente su participación activa en él). Sin embargo, en cada caso las circunstancias son diferentes y muestras biológicas que quizá no tengan relevancia en un hecho delictivo la pueden tener en otro distinto.

Existen fundamentalmente tres tipos de pruebas preliminares (figura 6):

- a) *Orientativas*: se trata de técnicas que nos revelan la posible naturaleza de la mancha pero no nos la aseguran, es decir, sirven sólo para descartar, pero no para concluir. Por ejemplo, la llamada reacción de Adler es una sencilla prueba colorimétrica que si resulta positiva nos orienta a pensar que estamos ante una mancha de sangre, pero sin poder asegurarlo pues existen otras sustancias (jugos vegetales, óxido, lejía) que también dan positiva esta reacción. Si la prueba resulta negativa podremos asegurar que el resto que estamos analizando no es sangre. Estas pruebas

son sencillas de realizar, son de bajo coste, muy rápidas, y nos ayudan a seleccionar las manchas a analizar.

- b) *De certeza*: nos permiten determinar el tipo de resto biológico analizado con seguridad. La detección de hemoglobina en la muestra para determinación de sangre o la visualización al microscopio de espermatozoides para la determinación de semen son algunos ejemplos (figura 7).
- c) *Específicas*: nos permiten determinar el tipo de organismo al que pertenece el resto biológico. Una vez que hemos determinado el tipo de muestra que hemos de analizar, interesa saber si se trata de una muestra humana o no. Existen principalmente dos tipos de pruebas específicas: unas basadas reacciones antígeno-anticuerpo y otras basadas en el estudio de ciertas regiones del ADN, si bien, en cierto tipo de muestras (pelos, restos óseos) puede realizarse un estudio de las características morfológicas para determinar el tipo de organismo. En el caso de que nos encontremos ante una muestra de origen animal, normalmente los análisis terminarán en este punto a no ser que el objetivo sea precisamente determinar la especie (por ejemplo, en caso de delitos ecológicos y de caza furtiva). En el caso de muestras de origen humano se procederá a realizar la segunda etapa del estudio destinada a individualizar la muestra mediante técnicas de ADN.

Conviene señalar que en determinadas ocasiones no es posible determinar el tipo de resto biológico hallado por la escasa cantidad de muestra disponible. En estos casos se suele proceder directamente a realizar los estudios de ADN para intentar individualizar la muestra.

INDIVIDUALIZACIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Actualmente, para determinar a qué individuo pertenece una muestra biológica se recurre al estudio de parte de su ADN. La molécula de ADN se localiza dentro de las células que forman los diferentes tejidos de un individuo y para poder analizarla, previamente hay que aislarla separándola del resto de componentes celulares. A pesar de que en una primera fase aislaremos la molécula completa, posteriormente sólo estudiaremos ciertas regiones de ella, concretamente las zonas más polimórficas («marcadores», «sistemas» o «loci» polimórficos).

La analítica de ADN se realiza en cuatro fases (figura 6):

- a) *Extracción de ADN*: consiste en separar la molécula de ADN del resto de componentes celulares. Se trata de un paso fundamental en el análisis genético de muestras forenses, pues el éxito del estudio puede verse afectado en gran medida si no se realiza un buen aislamiento de la molécula. Existen gran cantidad de sustancias que pueden interferir en este proceso, bien de los propios reactivos utilizados durante la extracción o bien de los soportes en los que se encuentran situados las manchas biológicas. La duración y rendimiento de este proceso también depende en gran medida del tipo de resto biológico que se está analizando. Así, a partir de las muestras de sangre o de saliva el proceso de extracción es más rápido que a partir de un resto óseo o dentario donde el ADN es menos accesible.
- b) *Cuantificación de ADN*: una vez que hemos finalizado la extracción se realiza la cuantificación para saber qué cantidad de ADN hemos logrado aislar y en qué estado se encuentra (completo o roto).
- c) *Amplificación de ADN*: consiste en copiar muchas veces el fragmento concreto de ADN que queremos estudiar para obtener una cantidad adecuada que nos permita su detección. Este proceso se denomina PCR (polymerase chain reaction) y gracias a él podemos analizar pequeñas cantidades de muestra biológica. Normalmente se amplifican varios fragmentos de ADN en paralelo para evitar agotar la muestra y para conseguir una mayor rapidez en el análisis (multiplex PCR).
- d) *Detección del producto amplificado o tipaje*: esta es la fase final del análisis molecular y es la que nos permite caracterizar y clasificar los fragmentos de ADN estudiados en cada muestra para diferenciar unas de otras.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Una vez que se ha finalizado el estudio molecular propiamente dicho se procede al análisis de los resultados obtenidos. Podemos encontrarnos con dos situaciones (figura 6):

1. Que dispongamos de muestras indubitadas de referencia para cotejar con las evidencias.
2. Que no tengamos acceso a muestras de referencia para comparar.

En el caso de que nos encontremos ante la primera situación, el resultado de la comparación entre muestras dubitadas e indubitadas puede ser de dos tipos:

1.1 *Coincidencia o compatibilidad*: el perfil genético evidenciado en ambos tipos de muestras es coincidente (criminalística) o compatible (paternidades) . En este caso se ha de valorar estadísticamente si la coincidencia es debida al azar o a que realmente la evidencia biológica pertenece al individuo de referencia. Es evidente que este análisis depende «a priori» del número de marcadores analizados en las muestras y una vez realizado el análisis, de lo frecuente o no que sean los alelos de cada marcador (por ejemplo, en el hipotético caso de que estudiáramos el grupo sanguíneo, el grupo 0 es muy frecuente en nuestra población por lo que este resultado se ha de valorar con menor «fuerza» que si obtenemos un grupo AB, mucho menos frecuente). Por esta razón, los laboratorios analizan de rutina en cada muestra una batería de marcadores con elevado poder de discriminación.

1.2 *No coincidencia o incompatibilidad*: el perfil genético evidenciado en las muestras dubitadas no coincide con el de la muestra indubitada; o bien, en casos de paternidad, el supuesto padre no comparte alelos con el hijo (incompatibilidad). En estos casos no es necesario realizar una valoración estadística pues la exclusión se informa con seguridad.

En los casos donde no disponemos de muestras de referencia para comparar con las evidencias podemos introducir los perfiles genéticos obtenidos en una base de datos de perfiles anónimos. Esto nos permitirá relacionar distintos delitos entre sí, facilitando así la investigación policial y judicial en hechos reincidentes como violaciones y robos. Actualmente algunos laboratorios poseen sus propias bases de datos de evidencias, pero sería deseable que se unificaran criterios así como la información contenida en cada una de ellas con el fin de intercambiar datos de forma rutinaria. Por otro lado, en otros países ya existe una legislación sobre la introducción de perfiles genéticos de carácter indubitado relacionados con prácticamente todos o cierto tipo de delitos (según el país); en España sería necesario que existiera un marco legal con el fin de evitar la pérdida de información que proporcionarían dichos perfiles.

Además de las bases de datos de perfiles genéticos anónimos obtenidos a partir de las evidencias, existen bases de datos de perfiles procedentes de cadáveres sin identificar y de familiares de desaparecidos que dieron su consentimiento para el análisis de su ADN. Con estas bases de datos los laboratorios pretenden facilitar la difícil tarea de identificar cuando no existen otros medios que el análisis genético.

PROBLEMÁTICA DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Ya hemos visto que, actualmente, para determinar a qué individuo pertenece una muestra biológica, se recurre al estudio de sus polimorfismos de ADN y ya hemos descrito todas las fases analíticas que se han de realizar (extracción, cuantificación, amplificación y tipaje), pero creemos conveniente apuntar la problemática del día a día del laboratorio en las diferentes etapas del análisis de estos polimorfismos.

Las muestras indubitadas que pertenecen a individuos vivos no suelen dar problemas en el análisis genético si fueron recogidas y enviadas al laboratorio en condiciones óptimas. Sin embargo, las evidencias con carácter dubitado pueden sufrir una serie de modificaciones que dependerán no sólo del tiempo transcurrido hasta el momento de su estudio, sino de las condiciones ambientales a las cuales se vieron sometidas, de la cantidad de muestra, del soporte en el cual se encuentran, del lugar de procedencia y del tipo de muestra biológica.

De todos los tipos de muestras biológicas que se analizan diariamente en el laboratorio forense, quizá sean las de sangre las más agradecidas. Sin embargo algunas veces también dan problemas. La sangre podemos hallarla bien en estado líquido o en forma de mancha. La sangre líquida bien conservada no ofrece ningún tipo de problema, pero no es raro que al laboratorio llegue *sangre* putrefacta bien porque se ha estropeado durante el transporte o bien porque pertenece a un cadáver en el cual se ha iniciado la descomposición. Para evitar el primer problema es conveniente realizar una mancha sobre una gasa antes de proceder al transporte de la muestra y para el segundo no queda más remedio que tratar de buscar otra muestra para el análisis, bien sea un tejido blando, uñas, o un resto óseo, dependiendo del estado de conservación del cuerpo. Por el contrario, la sangre en forma de mancha se conserva más fácilmente y puede analizarse tras varios años si las condiciones de secado fueron adecuadas. Quizá las manchas sobre cueros, maderas tratadas, restos vegetales y tierras sean de las más críticas pues estos materiales tienen diferentes grados de absorción y en ellos se encuentran presentes gran cantidad de inhibidores de la PCR como los taninos, que impiden que la reacción funcione.

Las muestras de *saliva* no suelen presentar problemas en la analítica de ADN. Suelen llegar al laboratorio en forma de mancha, sobre filtros de cigarrillo, sellos, chicles o prendas (por ejemplo la zona coincidente con la boca en un pasamontañas utilizado en un atraco) o bien en soportes más engorrosos como vasos, botellas o huesos de fruta.

En las muestras de **esperma** de los casos de agresiones sexuales, el principal problema es que además de los espermatozoides del agresor se suele encontrar presente otro tipo celular procedente de la víctima, las células del epitelio vaginal. Por ello, a la hora de analizar estas muestras nos encontraremos con una mezcla de perfiles genéticos. Es de gran ayuda disponer de una muestra indubitada de la víctima con el fin de identificar qué alelos pueden proceder de la víctima en la mezcla evidenciada.

El análisis de ADN a partir de muestras de **pelos** es más delicado que a partir de los restos biológicos anteriores. Estas muestras requieren un análisis microscópico previo a la analítica molecular con el fin de determinar el tipo de análisis que es posible en ellos (estudios de ADN nuclear o de ADN mitocondrial) además de otras características importantes. Con el análisis microscópico se determinan, entre otros, los siguientes puntos:

- Si se trata de pelos de origen animal o humano.
- Si se trata de pelos completos (con bulbo) o de fragmentos de pelos (sin bulbo). En el caso de fragmentos de pelos los estudios a realizar son los de ADN mitocondrial como veremos en el siguiente apartado. En el caso de los pelos con bulbo se puede determinar en qué fase vital se encuentra éste. En los pelos con bulbo telogénico (en fase de caída) se suele realizar análisis de ADN mitocondrial y en los pelos con raíz anagénica (en fase de crecimiento) se puede realizar un análisis de ADN nuclear.
- Visualizar el grado de suciedad que presentan los pelos y si aparecen restos de posible sangre adheridos a los mismos. En el caso de presentar sangre se ha de proceder a la separación de ambos tipos de restos biológicos para su análisis por separado, pues puede tratarse de muestras pertenecientes a diferentes personas.

En cuanto a las muestras de uñas diremos que se trata de una muestra muy agradecida pues suele dar resultados positivos en la mayoría de los casos. Las **uñas** pueden interesarnos fundamentalmente por dos motivos: como muestra biológica indubitada para la identificación cadavérica (analizando la propia uña) cuando no es posible una identificación por métodos no genéticos, o como lugar de búsqueda de restos biológicos si en un hecho delictivo medió lucha.

Las muestras de **tejidos** también suelen estar relacionadas sobre todo con la identificación de cadáveres en los que han comenzado los procesos de putrefacción. Los mejores resultados se obtienen con músculo

esquelético tomado de las zonas que se encuentren más preservadas de la putrefacción.

Los cadáveres ya esqueletizados en los que la única muestra disponible son los **huesos** y los **dientes** son los más problemáticos en cuanto a su identificación genética. Normalmente, los huesos largos (fémur o húmero) y los molares (muelas) son las muestras que ofrecen mejores resultados. La extracción de ADN a partir de este tipo de restos es más larga y costosa que en los casos anteriores.

ELECCIÓN DE POLIMORFISMOS A ESTUDIAR

En este apartado cabe resumir brevemente el esquema de actuación en cuanto a elección de los polimorfismos a estudiar según las características de cada muestra.

Como norma general diremos que siempre que sea posible se realizará el análisis de polimorfismos de **ADN nuclear**, pues son los que más información nos darán en cuanto a la identidad de la muestra. La decisión de seleccionar una región u otra del ADN nuclear está basada, en parte, en los resultados previos existentes que demuestren la eficacia de la reacción de PCR. Después de una extracción de ADN en muestras que se encuentran en muy mal estado de conservación, se obtienen fragmentos de sólo 100-200 nucleótidos debido a su estado de degradación (rotura), con el agravante de que muchas veces estas muestras van acompañadas de ADN bacteriano. Por el contrario las muestras de tejido fresco proporcionan fragmentos de ADN de más de 10.000 nucleótidos.

Uno de los fragmentos de ADN nuclear más estudiados es la amelogenina. Se trata de un marcador muy útil porque nos informa sobre el sexo del individuo al que pertenece la muestra dubitada.

Pero existen situaciones en las que es recomendable el análisis de otros tipos de polimorfismos como son los polimorfismos de ADN mitocondrial y polimorfismos ligados al cromosoma Y:

a) **ADN mitocondrial:** La aplicación de técnicas moleculares para estudiar los polimorfismos del ADNmt encuentra su justificación en los siguientes supuestos:

1. Cuando existe una gran degradación de las muestras enviadas al laboratorio por las malas condiciones de conservación en que permanecieron hasta que fueron halladas o por la antigüedad que tienen. En este caso el ADN mitocondrial se encontrará en mejor estado que el nuclear debido a su mayor número de copias por célula y de no obtener

resultados concluyentes en el análisis del ADN nuclear de este tipo de muestras, podemos pasar a obtener resultados positivos en el análisis de su ADN mitocondrial. Tal es el caso de restos óseos y dientes antiguos o sometidos a condiciones extremas.

2. Cuando la cantidad de muestra de que se dispone es mínima (pelos sin bulbo por ejemplo). Un pelo con bulbo caduco o un fragmento de pelo contendrá una cantidad de ADN nuclear tan escasa que en principio los análisis de estas muestras mediante ADN nuclear resultará negativo. Por ello, de rutina este tipo de muestras se procesan directamente mediante analítica mitocondrial.

3. En la identificación de restos biológicos y el establecimiento de una relación familiar cuando no se dispone de los progenitores y 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.

4. Cuando existe un sospechoso en un hecho delictivo pero no se dispone de muestra indubitada del mismo, se puede recurrir al estudio del ADN mitocondrial de un familiar relacionado matrilinealmente para excluirlo.

b) Cromosoma Y: Existen varios casos especiales en los cuales el análisis de los polimorfismos situados en el cromosoma sexual Y pueden ser de gran utilidad:

b.1 Casos de paternidad:

b.1.1 Casos de paternidad en los que no se dispone de material biológico de la madre: Dado que los polimorfismos del cromosoma Y sólo se heredan vía paterna, nos es indiferente disponer de muestra biológica de la madre para realizar este tipo de estudios. Nos bastará con disponer de la muestra del padre y compararla con la del presunto hijo para comprobar si ambas presentan idénticos polimorfismos Y.

b.1.2 Casos de paternidad en los que no existe presunto padre: Otros parientes del hijo putativo como los hijos de tíos paternos pueden ser analizados mediante marcadores del cromosoma Y. Si los cromosomas «Ys» de esos familiares no son idénticos al del hijo en cuestión, estaremos ante una exclusión, aunque también es posible que la «no-paternidad» ocurriera en la generación previa (es decir, que el padre ausente no fuera en realidad hermano por parte de padre de los tíos paternos del hijo putativo).

b.2 Casos de mezclas:

b.2.1 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. Con marcadores autosómicos esto no ocurre pues se produce la PCR preferentemente sobre el material femenino si la cantidad de células epiteliales femeninas es muy superior al número de espermatozoides. Además, el uso de polimorfismos de ADN del cromosoma Y nos permite incluir o excluir a un sospechoso cómodamente.

b.2.2 Delitos sexuales en los que el agresor es un individuo azoospermico: Los individuos azoospermicos tienen ausencia de espermatozoides en el eyaculado debido a defectos congénitos, o a la práctica de vasectomía o bien debido a factores ambientales. Los espermatozoides son la mayor fuente de ADN en las muestras de semen, por lo que un individuo azoospermico tiene mucho menos ADN seminal para el análisis. La cantidad de ADN por mililitro (mL) en el eyaculado de un individuo espermico es aproximadamente de 450 microgramos (μgr) en los espermatozoides y de 30 μgr en los leucocitos y células epiteliales. Por ello, en un individuo azoospermico, el contenido de ADN es aproximadamente de sólo el 6.3% del contenido en un individuo espermico. Por las mismas razones que en el caso anterior, es posible la detección de ADN de las células epiteliales y los leucocitos en eyaculados de individuos vasectomizados aunque se encuentre mezclado con ADN de la víctima.

b.2.3 Agresiones sexuales múltiples: el uso de los microsatélites del cromosoma Y en estos casos permite determinar el número mínimo de agresores.

b.2.4 Otros tipos de mezclas: En mezclas de sangre-sangre, o de sangre-saliva, o de sangre-pelos, el cromosoma Y es una herramienta de trabajo que puede aportarnos valiosa información.

b.3 Como herramienta de «screening»:

b.3.1 En casos de agresión sexual: los polimorfismos Y pueden servirnos para relacionar rápidamente estos casos (bases de datos) y excluir sospechosos de manera rápida antes de profundizar en marcadores autosómicos.

b.3.2 En grandes catástrofes: 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.

Para terminar este apartado diremos que tanto el ADNmt como los polimorfismos del cromosoma Y tienen mucho menos poder de discriminación que el ADN nuclear autosómico utilizado habitualmente. Ninguno de estos tipos de ADN identifica individuos, sino líneas familiares maternas y paternas, por tanto, la coincidencia de estos polimorfismos entre muestras dubitadas e indubitadas debe valorarse con menor fuerza.

ESTANDARIZACIÓN Y CALIDAD EN LOS LABORATORIOS DE GENÉTICA FORENSE

La gran cantidad de técnicas moleculares que se han desarrollado en los últimos años ha hecho necesaria la estandarización de protocolos, procedimientos técnicos y tipo de marcadores a utilizar en el entorno forense. Con este fin han surgido comités tanto en Europa (EDNAP: European DNA Profiling Group) como en América (TGWDAM: Technical Working Group for DNA Analysis and Methods) formados por representantes de distintos países y laboratorios.

Por otro lado, es estrictamente necesario que los laboratorios dedicados a la pericia genética cumplan unos requisitos mínimos de calidad. En este sentido, el Grupo Español y Portugués de la Sociedad Internacional de Genética Forense (GEP-ISFG) realiza un gran esfuerzo a través de los controles de calidad que coordina desde 1992. Los laboratorios que han superado dicho control poseen un certificado que así lo acredita y que puede ser de utilidad para conocer en qué condiciones realiza las peritaciones cada laboratorio.

LECTURAS RECOMENDADAS

ALONSO ALONSO, Antonio: «Una década de perfiles de ADN en la investigación civil y penal en España: la necesidad de una regulación legal», en *Genética y Derecho*, Consejo General del Poder Judicial, *Estudios de Derecho Judicial*, 36, Madrid, 2001, p. 68.

LORENTE ACOSTA, J. A., y LORENTE ACOSTA, M.: *El ADN y la identificación en la investigación criminal y en la paternidad biológica*, Comares, Granada, 1995.

DNA recommendations. 1992 report concerning recommendations of the DNA Commission of the ISFH relating to the use of PCR-based polymorphisms. (1992). International Journal of Legal Medicine 110: 175-176.

DNA recommendations. 1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeats) systems. (1994). International Journal of Legal Medicine 107: 159-160.

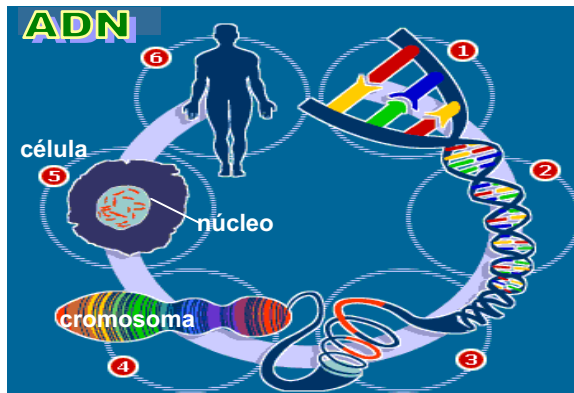


FIGURA 1. **ADN y su localización:** 1 y 2: el ADN es una molécula formada por unidades llamadas nucleótidos; 3 y 4: se encuentra enrollado y empaquetado formando unas estructuras llamadas cromosomas; 5: los cromosomas se localizan dentro de las células, en un compartimento denominado núcleo; 6: todas las células que contienen el mismo ADN

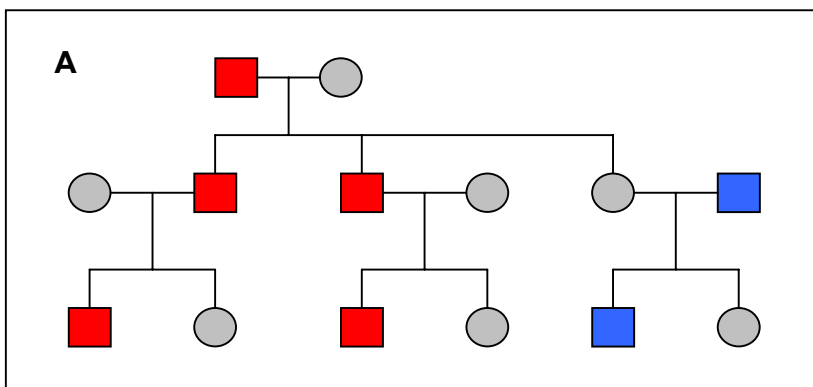


FIGURA 2. **Herencia:** (A) Cromosoma Y: en rojo los individuos que comparten este cromosoma (ausente en las mujeres). (B) ADN mitocondrial: en rojo los individuos que comparten este tipo de ADN (presente en varones y mujeres, pero sólo transmitido por las mujeres a su descendencia)

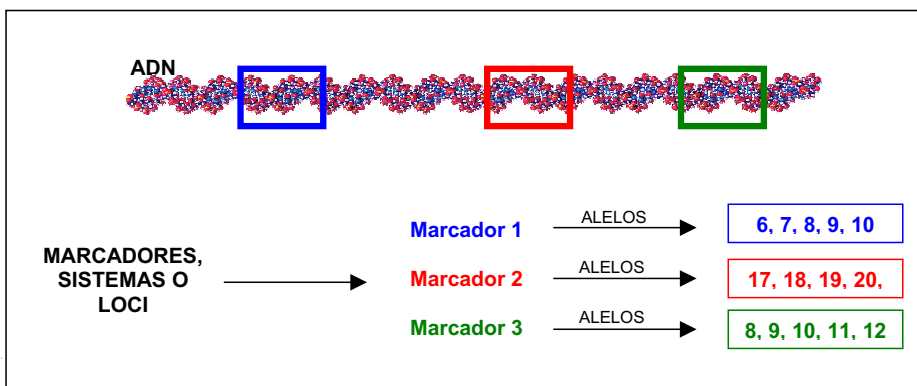
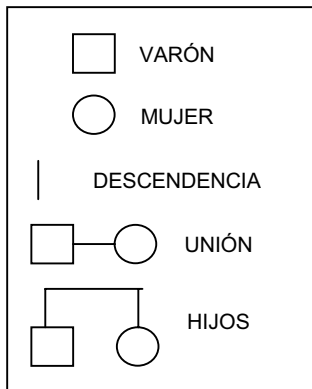
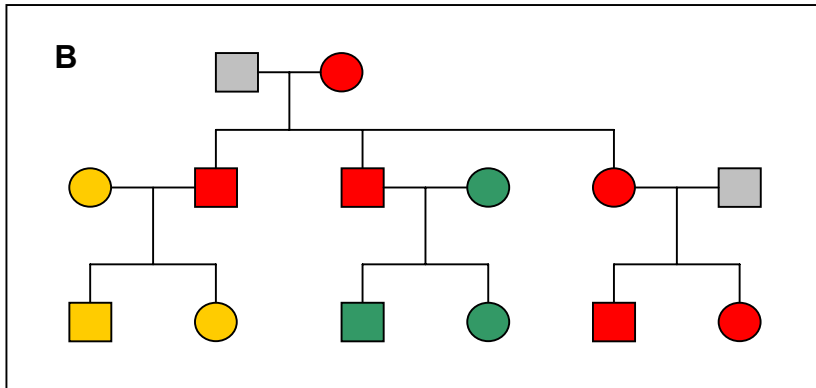


FIGURA 3. **Marcadores** (fragmentos de ADN) y sus correspondientes alelos (posibilidades) en la población

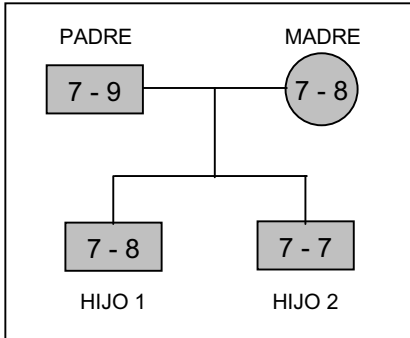


FIGURA 4. **Homocigotos y heterocigotos.** Para cierto marcador de ADN nuclear autosómico, el hijo 1 (heterocigoto) heredó el alelo 7 de su padre y el 8 de su madre. El hijo 2 (homocigoto) heredó el alelo 7 tanto de su padre como de su madre



FIGURA 5. **Algunos tipos de muestras dubitadas.** De izquierda a derecha, arriba: manchas de sangre, manchas de semen, manchas de saliva y pelo; abajo: tejido muscular, uñas, restos óseos y resto dentarios

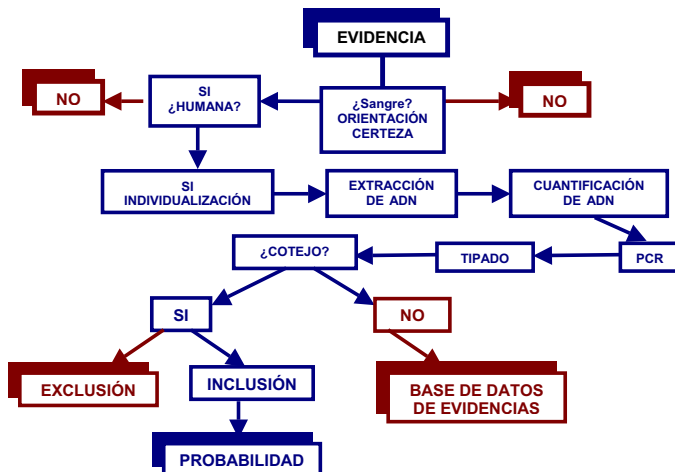


FIGURA 6. **Etapas en el análisis de una muestra forense**

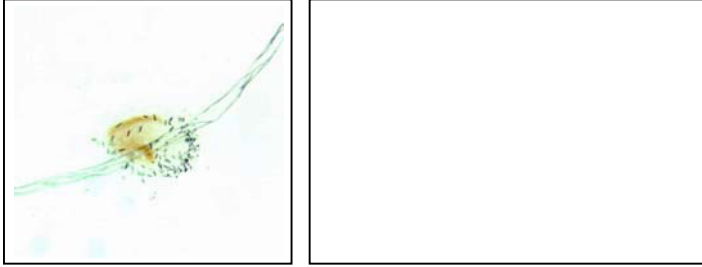


FIGURA 7. **Pruebas de certeza.** Izquierda: sangre, las pequeñas estructuras que rodean a la fibra son cristales de Teichman formados a partir de hemoglobina. Derecha: esperma, visualización de un espermatozoide