

**EL IMPACTO DE LA GENÉTICA EN LA
INVESTIGACIÓN MÉDICO-LEGAL Y FORENSE**

Dra. Susana Jiménez Moreno

Discurso de ingreso en la RAMCV

17 de octubre de 2017

AGRADECIMIENTOS

Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de la Comunidad Valenciana. Ilustrísimos Sra. Secretaria y Sr. Vicepresidente de esta Real Academia. Ilustrísimo Sr. Decano de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández. Ilustrísimo Sr. Presidente del Colegio Oficial de Médicos de Alicante. Autoridades universitarias y académicas, compañeros, señoras y señores,

Quiero en primer lugar manifestar mi agradecimiento a la Real Academia de Medicina de la Comunidad Valenciana por concederme el honor de pertenecer a la misma.

Me siento muy honrada, por el prestigio de esta Institución y por lo que para mí como médico y como persona representa este reconocimiento.

Permítanme que agradezca de forma muy especial al Profesor y Académico D. Juan Bautista Martí Lloret, maestro, compañero de trabajo y sobre todo amigo, por pensar en mí para esta consideración.

Me siento muy agradecida por las palabras que me ha dedicado, y por la presentación que ha hecho de mi trayectoria profesional.

Con el Profesor Martí Lloret empecé mi aventura en la Universidad, recorrimos juntos un largo camino, lleno de buenos momentos, aunque a veces muy complejos, y siempre admiré su forma de ser y su buen carácter.

Nuestros caminos profesionales siguieron juntos hasta que él se jubiló, lo que no ha impedido que siga disfrutando de su generosa amistad.

También quiero hacer extensiva mi gratitud a todos aquellos que han apoyado mi nombramiento; especialmente a la Dra. Rosa Ballester, incondicional compañera durante todos estos años, y al Dr. Justo Medrano por la entrañable relación profesional, que siempre hemos tenido.

Paso a continuación a presentarles el tema elegido para este acto que lleva por título:

**“EL IMPACTO DE LA GENÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN
MÉDICO-LEGAL Y FORENSE”**

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. GENOMA HUMANO Y VARIABILIDAD GENÉTICA	9
3. POLIMORFISMOS GENÉTICOS	10
4. CARACTERISTICAS GENERALES DEL ADN	13
5. LA PRUEBA DE ADN.....	15
6. APLICACIONES DE LA PRUEBA DE ADN EN LA INVESTIGACIÓN MÉDICO-LEGAL Y FORENSE.....	16
6.1 Criminalística biológica.....	16
6.2 Estudio de relaciones de parentesco.....	18
6.2.1 El caso del Zar Nicholas Romanov.....	19
6.2.2 El caso del Presidente Thomas Jefferson	21
6.4 Estudios de evolución y migración.....	24
6.5 Identificación de especies.....	24
6.6 Investigaciones históricas y genealógicas	24
6.7 El Proyecto Inocencia	25
7. BASES DE DATOS DE PERFILES DE ADN.....	25
8. CONTROL DE CALIDAD DE LAS INVESTIGACIONES	27
9. NUEVAS TECNOLOGÍAS.....	28
9.1 SNPs e INDELs, de ADN Codificante.....	28
9.2 AIMS (Ancestral informative markers) SNPs	29
9.3 SNPs Fenotipo Informativos (Phenotype-Informative SNPs).....	30
10. BIBLIOGRAFIA	32

INTRODUCCIÓN

La Medicina Legal y Forense, es la especialidad médica que tiene por objeto la utilización de los conocimientos médicos, jurídicos, administrativos, éticos y de ciencias afines, a la aplicación, desarrollo y perfeccionamiento del Derecho, de la Asistencia Sanitaria y de la actividad profesional médica (MSC/MEC, 1996).

La labor profesional del Especialista en este campo, se sustenta en el especial conocimiento de los distintos contenidos doctrinales y aplicación, de las técnicas propias de la especialidad, para la investigación, análisis, identificación y resolución, de las cuestiones médico-legales planteadas por Tribunales, Instituciones Sanitarias y la Sociedad.

Del amplio conjunto de áreas de contenido que integran esta Especialidad Médica he querido dedicar esta exposición a una parcela muy concreta; de gran importancia y actualidad, y a la que he dedicado gran parte de mi actividad profesional, que es la **GENÉTICA FORENSE**.

Considerada ya una especialidad propia dentro del ámbito científico, y de comienzo reciente, tiene entre sus objetivos fundamentales la resolución de cuestiones relacionadas con la Identidad biológica.

Se fundamenta en el estudio de la variabilidad humana y otras especies, y estudia básicamente las diferencias genéticas que existen entre los individuos.

El análisis de esta diversidad genética y su aplicación a la

investigación médico-legal y forense, va a permitir la resolución de muy diversos problemas médico-legales.

La genética forense no aparece como tal desde sus orígenes, sino que constituye una evolución de otras disciplinas como, la hemogenética forense, o la Biología Forense.

El objetivo de las investigaciones ha sido siempre intentar resolver problemas relacionados con la identidad biológica, pero cada época ha utilizado los conocimientos científicos y técnicos propios del momento.

En un principio y hasta la década de los años 70 del siglo pasado, se utilizaron, para resolver estas cuestiones, elementos proteicos presentes en la sangre y en algunos tejidos, que presentaban una herencia conocida y una relativa variabilidad en la población.

Las primeras investigaciones surgen a principios del siglo XX con la descripción por Karl Landsteiner, en 1900, del grupo sanguíneo ABO de los hematíes (Landsteiner, 1928) y el descubrimiento de su transmisión hereditaria por Von Dungern y Hirschfeld en 1910 (Von Dungern, 1910). Por la variabilidad que presentaba en la población, este antígeno fue utilizado en esos años para resolver casos de investigación biológica de la paternidad y algunos análisis de vestigios biológicos de interés criminal, como manchas de sangre, pero con grandes limitaciones.

Posteriormente, se fueron añadiendo a estos estudios, otros

marcadores proteicos; más antígenos eritrocitarios (los sistemas MNSs, , Duffy, Rh, etc...), proteínas plasmáticas, enzimas eritrocitarias y leucocitarias, y en los años 60 se incorpora el HLA (Antígeno Leucocitario Humano) descubierto por Jean Dausset (Dausset, 1980), que se reveló como el sistema con mayor variabilidad, de los conocidos hasta el momento, presentando , una alta capacidad de discriminación entre las personas y de gran utilidad por ello en el campo médico-legal.

Estos marcadores proteicos, fueron en esa época, muy útiles, aunque presentaban importantes limitaciones, sobre todo relacionadas con la escasa y relativa variabilidad de algunos de los sistemas y la necesidad de muestras biológicas muy concretas.

Cuando el análisis debía realizarse a partir de muestras biológicas pequeñas o en mal estado de conservación, situación frecuente en las investigaciones forenses, las limitaciones eran mayores, siendo en ocasiones imposible obtener resultados concluyentes o válidos a partir de estos marcadores.

A mediados del siglo XX se van a producir toda un serie de importantes hallazgos sobre el ADN, tales como las teorías sobre el Ácido Desoxirribonucléico como molécula portadora de la información genética formuladas por Oswald Avery en 1944 (Coburn, 1969), o los posteriores trabajos experimentales de importantes científicos como Rosalind Franklin (Glynn, 2008) y Maurice Wilkins (Wilkins, 1953), que con sus estudios sobre la difracción de los Rayos X, ayudaron a la presentación por James

Watson y Francis Crick de la estructura en doble hélice del ADN en 1953 (Watson, 1953). Todos ellos junto a otros importantes científicos del momento, abren el camino para el desarrollo de la **Genética Molecular**.

Incesantes y sorprendentes avances científicos y tecnológicos en los campos de la Biología Molecular, la Genética, la Ingeniería Genética, o la Bioinformática entre otros, van a repercutir de manera extraordinaria en la investigación Médico Legal y Forense, sentando las bases de esta nueva especialidad multidisciplinar que será la **Genética Forense**.

Gracias a los descubrimientos sobre la molécula de ADN se da un paso fundamental en la investigación, del estudio del **Fenotipo** de una persona a través del análisis de los marcadores proteicos, se pasa a estudiar directamente su **Genotipo**.

En la década de los años 80, el genetista británico Alec Jeffreys, catedrático en la Universidad de Leicester y sus colaboradores, observan unas regiones determinadas en el ADN que presentaban, una variabilidad muy significativa, entre distintos individuos, denominándolas **Regiones Hipervariables del Genoma o Polimorfismos VNTRs**.

El alto poder de discriminación que se obtenía al analizar estas regiones polimórficas, permitía establecer claras diferencias entre los individuos de una población, de forma similar a las huellas dactilares.

La lectura de los resultados de los análisis, se realizaba a través de geles y placas radiográficas, donde se veían una serie de bandas, a modo

de un código de barras, y se le asignó el nombre de **Huella Genética o DNA Fingerprint** (Jeffreys, 1985).

Un gran avance, en esos momentos, fue también la introducción de la técnica de PCR o Reacción en Cadena de la Polimerasa, desarrollada por Kary Mullis, que permite producir un gran número de copias de un fragmento determinado de ADN, es decir, la amplificación de regiones variables o Polimorfismos de ADN, para una mejor identificación de los mismos (Mullis, 1986, 1990).

Estos avances en el conocimiento y en la tecnología va a permitir estudiar mejor las diferencias en el Genoma de los individuos.

1. GENOMA HUMANO Y VARIABILIDAD GENÉTICA

El genoma es el conjunto del material hereditario de un organismo, una secuencia de nucleótidos que especifican las instrucciones genéticas para el desarrollo y funcionamiento del mismo y que son transmitidas de generación en generación. Es como un libro que contiene el conjunto de instrucciones que posee la célula.

El genoma humano haploide contiene aproximadamente $3,3 \times 10^9$ pares de bases, aunque no todas son expresivas en términos de producción de proteínas.

Los seres humanos somos esencialmente iguales en nuestro ADN, tenemos entre un 99.5 y 99.9 % de similitud, aunque algunos de nosotros

nos veamos muy diferentes de nuestros congéneres. Somos de las especies que menos diversidad interindividual tiene.

El genoma de los eucariotas superiores, contiene dos tipos de secuencias:

- Secuencias de ADN, denominadas genes, que codifican para la formación de proteínas, que forman el **ADN expresivo o CODIFICANTE**.
- Secuencias de ADN que no son transcritas a proteínas y que forman el **ADN no CODIFICANTE**.

Algo menos del 2% del genoma humano es **ADN CODIFICANTE**, que en general, es poco variable o polimórfico entre las personas y el resto es **ADN NO CODIFICANTE**, éste al no estar sujeto a presión selectiva intensa, presenta una variabilidad mayor, siendo esta una de las razones por la que se utiliza fundamentalmente, en la mayoría de las investigaciones forenses.

2. POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Friedrich Vogel, definió el polimorfismo genético como “**La ocurrencia en gran parte o en toda la población humana, de dos o más genotipos alternativos discretos, cada uno con frecuencias mayores, de aquellas que se pueden mantener en la población por mutaciones**

recurrentes”.

Existen distintos tipos de polimorfismos en el genoma humano que, según sus características, su localización y su modo de transmisión hereditaria van a estar más o menos indicados en las distintas investigaciones a realizar con fines forenses.

Entre los más utilizados con estos fines se encuentran:

a) Los polimorfismos de secuencia, producidos por el cambio de uno ó más nucleótidos en una secuencia de ADN. Son muy abundantes en el ADN codificante y algo menos en el ADN no codificante. En este grupo estarían los conocidos como SNPs (Polimorfismos Nucleotídicos Simples), y los INDELS (Polimorfismos de Inserción/delección).

b) Los polimorfismos de longitud, aquellos que su variabilidad se basa fundamentalmente en repeticiones en tandem de una secuencia de ADN determinada, por lo que reciben también el nombre de VNTRs (Variable Number Tandem Repeats) (Nakamura, 1987). A este grupo **pertenecen los** llamados **Minisatélites y los Microsatélites**, cuya característica diferenciadora fundamental entre ellos, es el tamaño de la unidad de repetición y por tanto su tamaño final.

Los Microsatelites, llamados también STRs, (Short Tándem Repeats o Repeticiones en tandem cortas), son muy abundantes en el

“ADN NO CODIFICANTE”, y son los más utilizados en la actualidad en las investigaciones forenses.

Se caracterizan por presentar una unidad de repetición de 2 a 6 pares de bases y el tamaño total del polimorfismo se encuentra entre 50 y 500 pares de bases.

Teniendo como ventajas más señaladas para su utilización: el alto grado de polimorfismo, la utilización de mínimas cantidades de ADN para su identificación, su detección aún con una elevada degradación del ADN, y el análisis simultáneo de múltiples loci o “Multiplexes” que permite obtener altos valores de discriminación (Butler, 2005).

Cada polimorfismo STR tiene una localización específica en los cromosomas, llamada locus y para cada locus, toda persona posee dos formas alélicas. Su de una generación a la siguiente tiene una herencia Mendeliana simple, por lo que uno será de origen materno y el otro de origen paterno.

El estudio de estas variaciones en la secuencia del ADN de un individuo nos va a permitir realizar un **perfil genético**, que recogerá los alelos presentes en cada polimorfismo estudiado, perfil genético único para cada persona, con una excepción que es el caso de los gemelos univitelinos que presentarían el mismo perfil. Estos polimorfismos se pueden investigar tanto en el ADN nuclear como en el Mitocondrial.

3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ADN

De manera somera y básica recordaremos algunas características propias de cada tipo de ADN y su utilidad en la investigación médico-legal.

El ADN Nuclear, está compuesto por 3.300 millones de pares de bases, tiene una estructura de doble hélice y se encuentra en el núcleo de la célula formando los 23 pares de cromosomas que presenta la especie humana, 22 pares de cromosomas autosómicos y el par de cromosomas sexuales, XX en las mujeres y XY en los hombres.

El ADN del núcleo es el mismo en cada célula, y hay billones de copias idénticas de ADN en una persona.

Dentro del ADN nuclear los polimorfismos pueden estar en los Cromosomas autosómicos, en el Cromosoma X o en el Cromosoma Y. La utilización de unos u otros va a depender de la investigación que vayamos a realizar.

La distinta forma de transmisión hereditaria de los mismos será un factor determinante para su elección.

- Por ejemplo, los polimorfismos del Cromosoma Y se heredan solo por vía paterna, en forma de haplotipo o bloque, al no sufrir recombinación.
- Los Polimorfismos del Cromosoma X, son transmitidos por la madre a toda la descendencia, pero el padre sólo lo transmite a

las hijas. Hecho que puede ser muy útil cuando se estudian casos de hermanadad entre mujeres en ausencia del padre.

- En cuanto al ADN de los Autosomas, es único para cada persona, excepto en los gemelos univitelinos, que poseen el mismo.

El ADN Mitocondrial, muy diferente del nuclear, es una molécula circular de doble cadena formada 16.569 pb, que se encuentra en múltiples copias dentro de la mitocondria, entre 1000 y 10000 moléculas por célula. La cifra media de mitocondrias en una célula varía entre 250 y 1.000, dependiendo del tipo celular y de sus necesidades metabólicas.

Este ADN presenta polimorfismos en regiones no codificantes, que permiten estudiar la variabilidad interpersonal, y se encuentran en la llamada **Región Control**, en las zonas HVS-I, HVS-II y HVSIII.

Desde hace años se conoce con exactitud la secuencia de todos sus nucleótidos, lo que es de gran utilidad para el análisis de sus polimorfismos (Anderson, 1981).

Debido a su herencia materna, su genoma es haploide y no se encuentra sometido a procesos de recombinación (Carracedo, 2000).

Su pequeño tamaño, la presencia de múltiples copias, su alto polimorfismo y su especial herencia materna, son factores muy importantes para su utilización, sobre todo en el análisis de muestras antiguas y/o degradadas o en investigación de linajes maternos (Chen, 2005).

4. LA PRUEBA DE ADN

La realización de un análisis o “**Prueba de ADN**”, conlleva una serie de etapas:

A. Recogida, recepción y preparación de las muestras biológicas para su estudio; éstas pueden ser de distinto origen, sangre, esperma, pelos, saliva, células de la boca, etc...

B. Análisis de las muestras:

- Extracción de ADN de las células.
- Cuantificación y valoración de la calidad del ADN.
- Amplificación de los polimorfismos, mediante técnicas de PCR (Polymerase Chain Reaction).
- Detección de los fragmentos o polimorfismos, por electroforesis capilar (Butler, 2001).

Obtención como resultado de un **Perfil Genético**, a partir de la muestra, ya sea de evidencias o de individuos.

C. Estudio comparativo de los perfiles genéticos obtenidos:

- Entre las evidencias y sospechosos
- Entre miembros de un grupo o familia
- Con bases de Datos de ADN, propias, Nacionales e Internacionales.

D. Interpretación y valoración de los resultados.

E. Elaboración del informe pericial.

5. APLICACIONES DE LA PRUEBA DE ADN EN LA INVESTIGACIÓN MÉDICO-LEGAL Y FORENSE

De entre las distintas aplicaciones que tiene el análisis del ADN en la investigación Médico-Legal y Forense vamos a citar algunas de ellas.

6.1 Criminalística biológica.

Parte de la Criminalística que estudia los vestigios biológicos de interés criminal.

La incorporación de los análisis de ADN ha producido una gran transformación en este campo, cambiando en gran medida el escenario de la investigación forense.

Permitiendo que podamos analizar una gran diversidad de muestras biológicas, como manchas de sangre o semen, pelos, uñas, saliva, tejidos corporales y restos de diversa procedencia biológica: como restos óseos, piezas dentales, tejidos quemados, restos bajo las uñas, restos epiteliales en prendas de ropa o superficies de contacto, tejidos incluidos en parafina, tejidos fetales, etc...

Su análisis permite obtener los perfiles genéticos correspondientes para poder establecer la relación con hechos delictivos o con personas implicadas en los mismos.

Actualmente para la resolución de casos como asesinatos, agresiones sexuales, y otros delitos, se utilizan fundamentalmente

Polimorfismos de ADN no Codificante.

Uno de los primeros casos que se resolvió gracias a los análisis de ADN es el llamado caso Pitchfork.

Colin Pitchfork, fue inculpado y sentenciado por la violación y asesinato de dos mujeres adolescentes, al principio de la década de los 80 en Reino Unido.

Tras el primer asesinato y agresión sexual, la policía relacionó una muestra obtenida del cuerpo de la víctima con una persona cuyo grupo sanguíneo era A positivo y con un perfil enzimático que sólo coincidía con el 10% de las personas de sexo masculino. Pero a pesar de estos hallazgos, los indicios probatorios no fueron suficientes para llevar a cabo ninguna detención, por lo que el caso permaneció abierto.

Tras el segundo suceso y por las circunstancias especiales y similitudes que presentaban ambos asesinatos se decidió realizar la búsqueda del responsable entre los varones de un área geográfica determinada.

En esos momentos Alec Jeffreys, junto con Peter Gill y Dave Werrett miembros del Forensic Science Service (FSS), habían comenzado a utilizar el análisis del ADN en algunos casos judiciales y la policía solicitó su colaboración.

Se solicitó voluntariamente una muestra de sangre y se hicieron pruebas de ADN a cerca de 5.000 habitantes de los alrededores, aunque

ninguno de ellos coincidía con el perfil genético obtenido de una muestra de semen encontrada en una de las víctimas.

Cuando todo parecía perdido, los investigadores descubrieron que un hombre de la zona, llamado Colin Pitchfork, había eludido la investigación presentando una muestra de sangre de otra persona. La confesión de la persona que había cedido su muestra, llevó a la policía a sospechar de Colin y a realizar un registro de su domicilio, donde se encontraron muestras biológicas que lo relacionaba con los asesinatos, ayudando de ésta manera a demostrar su culpabilidad.

6.2 Estudio de relaciones de parentesco

Las pruebas que más se solicitan son las investigaciones de paternidad, en nuestro país se realizan del orden de 10.000 paternidades anuales judiciales, estimándose un número superior para las privadas, aunque es difícil de determinar.

La aplicación del análisis de los polimorfismos de ADN ha ampliado el número de situaciones, en las que se puede estudiar la relación de parentesco, algunas de gran complejidad. La seguridad científica y jurídica que proporcionan las pruebas de ADN, hace que este análisis se haya revelado fundamental e imprescindible en estos casos.

Por ejemplo, estudios de paternidad con el padre fallecido, estudios de hermanidad cuando faltan los progenitores, búsqueda de la relación familiar cuando ha habido un salto generacional (abuela-nieta), (abuelo-nieto), entre otros.

Muchos casos se han podido resolver desde que se utilizan los análisis de ADN, algunos muy conocidos por su relevancia histórica o por su trasfondo político o social.

6.2.1 El caso del Zar Nicholas Romanov

En 1918 fueron asesinados todos los miembros de la familia del Zar Nicolás II, ocultándose los cadáveres. En 1991 se hizo público el hallazgo de una fosa en Yekaterimburgo con la presencia de restos biológicos que podían pertenecer a la familia del Zar.

Los análisis genéticos, llevados a cabo por el equipo dirigido por el doctor Peter Gill, demostraron entonces que se trataba de huesos y dientes de nueve personas, el análisis de los cromosomas sexuales y el ADN mitocondrial, permitió llegar a la conclusión de que los restos pertenecían a cinco mujeres y cuatro varones (Gill, 1994).

El estudio antropológico estableció que, de los restos óseos de las cinco mujeres, tres eran niñas y dos mujeres adultas. Tres de las niñas se comprobó que eran hijas biológicas de dos de los adultos y las otras cuatro personas (cuatro adultos) no presentaban relación de parentesco biológico.

Ante la suposición de que los restos pertenecían a miembros de la familia Romanov, faltaban por encontrar los restos del hijo pequeño, Alexei y de una de las niñas.

En julio de 2007 se encontró una segunda fosa con más restos

biológicos a unos 60 metros de la primera. El análisis genético de estos nuevos restos reveló que eran huesos y dientes pertenecientes a dos personas distintas.

Un varón joven de entre 12 y 15 años con un haplotipo de cromosoma Y, coincidente con el encontrado en los restos analizados del zar Nicolás II y un patrón de ADN mitocondrial igual al encontrado en los restos asignados a la zarina Alejandra.

La otra persona era una mujer joven de entre 15 y 19 años, que presentaba el mismo perfil genético de ADN mitocondrial que el encontrado en los restos de la Zarina y en sus otras tres hijas halladas en 1991, por lo que se propuso que los restos podrían pertenecer tanto a Anastasia, que tenía 17 años, como a María, que tenía 19.

Se hicieron más estudios para confirmar que se trataba realmente de los restos de la familia Romanov. Los investigadores compararon el ADN mitocondrial de la Zarina y sus hijos con el del duque de Edimburgo, consorte de la reina Isabel de Inglaterra, y se comprobó la coincidencia.

También se compararon polimorfismos del cromosoma Y del Zar y el Zarevich con los de un descendiente vivo de la familia y se vio que presentaban el mismo Haplótipo.

Este estudio es el ejemplo de un gran trabajo por parte de los investigadores que consiguió dar luz a lo ocurrido a estos personajes históricos.

6.2.2 El caso del Presidente Thomas Jefferson

Thomas Jefferson, tercer presidente de los Estados Unidos de América y principal autor de la Declaración de Independencia, fue acusado públicamente de haber tenido un hijo, llamado Eston Hemings, con su esclava Sally Hemings. Hecho que él siempre negó y que fue una fuente de controversia sobre su persona.

En 1998, un grupo de investigadores americanos y británicos, se pusieron a resolver el enigma, realizaron un estudio de linaje paterno basado en Polimorfismos del Cromosoma Y.

Encontraron 5 descendientes varones vivos del tío paterno de Thomas Jefferson, Field Jefferson, y un bisnieto de Eston Hemings, John Weeks Jefferson. Estudiaron en ellos polimorfismos STRs del cromosoma Y y al comparar los perfiles obtenidos comprobaron que presentaban todos el mismo Haplótipo.

Lo que indicaría que Eston Hemings pertenecía al mismo linaje patrilineal que Thomas Jefferson. Y aunque los datos históricos podían apoyar a verificar la paternidad, el análisis genético basado en el estudio de Y-STRs fue una prueba que aportó una realidad biológica.

6.3 Identificación de cadáveres y desaparecidos

El análisis del ADN nos da la posibilidad de trabajar en la identificación de cadáveres, de personas desaparecidas, identificaciones en situaciones de catástrofes, atentados, donde en la mayoría de las veces la única posibilidad de identificación va a depender de restos óseos,

piezas dentales, o muestras en mal estado de conservación (Prinz, 20017).

Los perfiles genéticos obtenidos de los restos biológicos y su comparación con perfiles de familiares o con los de las Bases de Datos de ADN nos van a permitir conocer la identidad de esas personas.

Casos como **el del avión militar Yakovlev 42**, en mayo de 2003, que se estrelló cerca del aeropuerto de Trebisonda (Turquía), donde iba a realizar una escala técnica. El accidente costó la vida a 61 militares y guardias civiles españoles, que formaban parte de la Fuerza Internacional de Asistencia a la Seguridad en Afganistán. A las víctimas españolas se sumaron los doce tripulantes ucranianos del avión y un ingeniero de vuelo ruso.

Tras el accidente, las autoridades turcas comenzaron la identificación de los cuerpos, muchos de ellos irreconocibles, por lo que se tomaron muestras de ADN y los restos fueron repatriados a España antes de que finalizasen las identificaciones. Se tenía conocimiento de que 30 de los cuerpos no habían sido identificados aún. Los restos llegaron a España y fueron rápidamente inhumados.

La falta de identificación del total de las víctimas, motivó la reapertura judicial del caso y la exhumación de los cuerpos.

En España sólo pudieron exhumarse 21 cuerpos para su identificación, el resto habían sido incinerados. Los forenses de la

Audiencia Nacional y del Instituto de Toxicología y Ciencias Forenses, volvieron a analizar los restos encontrados.

El 12 de mayo de 2004, 37 familiares de las víctimas se sometieron a pruebas de ADN en el Instituto de Toxicología de Estambul. Allí comprobaron que hubo al menos 22 errores en la identificación de los fallecidos.

El análisis genético de restos biológicos está siendo de gran valor en la identificación de personas desaparecidas durante la **Guerra y postguerra Civil Española**:

La Guerra Civil Española fue un desastre de masas con más de un millón de muertos. Gran número de personas desaparecieron y se sabe que están enterradas en fosas comunes.

La Ley de Memoria Histórica de 2007, promovió la identificación de las víctimas por diversos medios, incluido el análisis de ADN.

Se trata por tanto de una aplicación más de la Genética Forense a la identificación de personas víctimas de un desastre de masas causado por un conflicto bélico y político.

Junto a estas aplicaciones del análisis de ADN más conocidas hay otras líneas de investigación de gran importancia, donde también el estudio de los polimorfismos genéticos es una herramienta fundamental.

6.4 Estudios de evolución y migración

Fundamentalmente basados en el análisis de mutaciones específicas en el ADN mitocondrial y en el Cromosoma Y, transmitidas a lo largo de la evolución de los humanos. Esto ha permitido establecer el origen del hombre moderno y la colonización de los continentes tras la salida de África.

6.5 Identificación de especies

Identificación genética y control de filiación mediante técnicas moleculares en especies de animales domésticos y salvajes: perros, gatos, vacas, ovejas, cabras y caballos, etc...

Por tanto, permite el análisis de vestigios animales de interés forense. También es de gran utilidad en Entomología forense, para el establecimiento del Intervalo Post-Mortem (PMI).

6.6 Investigaciones históricas y genealógicas

Además de los casos expuestos anteriormente en el apartado del estudio de relaciones de parentesco, en la actualidad los análisis de ADN se están realizando para establecer líneas genealógicas que intentar resolver dudas históricas.

Un ejemplo es el llamado “El proyecto de ADN de los Borbones” que se basa en la búsqueda de los descendientes de la corona francesa y española”.

Distintas empresas privadas, ofrecen en la actualidad, a cualquier

persona, la posibilidad de investigar en sus orígenes a través de lo que han llamado “La genealogía por ADN”.

6.7 El Proyecto Inocencia

Es un proyecto que está funcionando en EEUU desde 1992, aprobado por Ley y con el propósito de identificar casos de personas que se encuentran injustamente condenadas.

Las condenas que se revisan son aquellas de personas que llevan sobre 15 y 20 años en prisión tras ser encontradas culpables mediante evidencia biológica que no fue sometida a pruebas de ADN, tecnología que no estaba disponible en aquellos años.

Desde su puesta en funcionamiento se ha demostrado la inocencia de más de 300 personas.

6. BASES DE DATOS DE PERFILES DE ADN CON FINES FORENSES

Es indudable que para el éxito de todas estas investigaciones que hemos comentado hay un trabajo previo necesario y es contar con amplios estudios poblacionales que nos permitan conocer la distribución y frecuencia de los polimorfismos más utilizados y es imprescindible la existencia de Bases de Datos (Corte-Real,2004), que recojan múltiples perfiles genéticos con los que poder comparar los resultados obtenidos.

Las bases de datos de ADN son archivos de perfiles genéticos humanos que comenzaron a crearse a mediados de los años 90.

En sí, son bases de datos informatizadas que contienen los perfiles de ADN de muestras tomadas de evidencias o personas relacionadas con hechos violentos y delictivos (Gill, 2006)

Han demostrado su eficacia gracias a su capacidad de relacionar sospechosos con delitos y se caracterizan por incluir un núcleo universal común de Polimorfismos STRs.

En la actualidad muchos países del mundo, poseen bases propias.

El Federal Bureau of Investigation (FBI) propuso la base de datos denominada **CODIS** (*Combined DNA Index System*) que incluye un total de 13 microsatelites STRs y ha servido de referencia para el resto de países (FBI-CODIS, 2010).

En Europa la primera base de datos de STRs autosómicos surgió en Reino Unido en 1995, la NDNAD (*National DNA Database*), y posteriormente distintos países europeos han ido creando las suyas, Austria, Alemania, Países Bajos, España.

En 2007 se publicó en nuestro país una Ley Orgánica que estableció la regulación de la base de datos policial sobre identificadores obtenidos a partir del ADN, estableciendo legalmente la creación de esta base de datos dependiente del Ministerio del Interior a través de la Secretaría de Estado de Seguridad, y en 2008 se reguló legislativamente la composición y funciones de la Comisión Nacional para el uso forense del ADN (CNUFADN).

Desde hace algunos años, muchos países europeos acordaron cooperar en la investigación de la delincuencia transfronteriza, la lucha contra el terrorismo y la inmigración ilegal mediante el Tratado de Prüm (Decision UE 2008).

En este Tratado se contempla que, en el contexto de la investigación y persecución de delitos, los países participantes puedan cruzar entre ellos sus bases de datos de ADN. Con el uso del **CODIS** es posible el intercambio de forma automática y la comparación de perfiles genéticos, para en caso de coincidencia genética (match o hit), enviar automáticamente una notificación a los países implicados.

A pesar de toda la regulación existente, quedan algunas cuestiones por estandarizar entre los distintos países como, quien debe ingresar esta información en tales bases de datos, el tiempo de permanencia de los perfiles en dichas bases, el control de la calidad de los perfiles y el control de las propias bases de datos, entre otras.

7. CONTROL DE CALIDAD DE LAS INVESTIGACIONES

Para el control de la calidad de los perfiles, y comprobar la competencia de los laboratorios, una Decisión del Consejo de la Unión Europa obliga, desde 2009, a los laboratorios forenses de ADN a encontrarse acreditados de conformidad con lo establecido en la Norma ISO 17025.

La continua revisión, introducción, validación y mejora de las

técnicas de obtención de perfiles genéticos, ha llevado a la creación de Grupos de Trabajo Internacionales como el **EDNAP** (European DNA Profiling Group), el **ENFSI** (Network of Forensic Science Institute), o la **ISFG** (International Society of Forensic Genetic).

Dentro de la ISFG, muchos países han ido creando grupos de Trabajo propios. España creó, el Grupo de Habla Hispano Portuguesa o **GHEP-ISFG**.

Estos grupos mediante ejercicios colaborativos periódicos, promueven el intercambio de información para fomentar la estandarización y reproducibilidad de las nuevas tecnologías y metodologías en el campo forense.

8. NUEVAS TECNOLOGÍAS

9.1 SNPs e INDELs, de ADN Codificante.

Estos polimorfismos de nucleótido único (SNPs) y los marcadores inserción/deleción (INDELs), generalmente tienen solo dos alelos, aunque en ocasiones pueden llegar a tener 3 y hasta 4 alelos diferentes.

Estos marcadores se han revelado de gran interés cuando el ADN de las evidencias está altamente degradado o si aparecen mutaciones en el diagnóstico de parentesco.

El reducido número de alelos, que presentan, en comparación con los marcadores STRs, conlleva, una baja tasa de mutación, lo que es de

gran utilidad en investigaciones de paternidad.

Actualmente, estos marcadores, se aplican cuando se observa una o más mutaciones en los loci STRs, donde el uso de paneles de SNPs permite solucionar estos casos.

También es muy útil en casos de los casos de paternidad con relaciones familiares en el grupo y en paternidades que se estudian a partir de muestras muy degradadas por ejemplo tras una exhumación.

En Criminalística de momento los STRs permanecerán, en particular, en el trabajo de rutina, siempre que sea necesario contrastar los resultados con las bases de datos nacionales e internacionales.

9.2 AIMS (Ancestral informative markers) SNPs

Los SNPs informativos de ancestralidad permiten predecir el origen bio-geográfico de la persona que ha dejado una muestra biológica y van a ser de gran utilidad cuando:

- Se carece de sospechosos
- No hay coincidencia entre el perfil genético del vestigio y las bases de datos de STRs

Su baja tasa de mutación los convierte en marcadores genéticos estables. La coincidencia entre individuos es probablemente debida a identidad por descendencia, es decir que estos alelos han sido heredados de un ancestro común.

Las diferencias en las distribuciones de los marcadores SNPs reflejan historias demográficas tales como migraciones, aislamientos, mezclas, etc. Y pueden usarse para inferir el origen étnico o geográfico de un individuo.

Una discriminación biogeográfica o de ancestralidad eficaz requiere un número muy elevado de AIMS. Por lo que para ello es necesario recurrir a su análisis mediante chips o microarrays.

9.3 SNPs Fenotipo Informativos (Phenotype-Informative SNPs)

El análisis de evidencias forenses mediante paneles de SNPs nos van a permitir predecir Características Externamente Visibles (EVCs), es decir rasgos fenotípicos de quien dejó la evidencia (Branicki, 2009, 2015).

Los primeros avances han sido en relación con caracteres pigmentarios, del pelo, piel y color de los ojos.

En ausencia de sospechosos y por tanto para ayudar a la búsqueda de los mismos se pretende obtener un retrato robot a partir del ADN de las evidencias.

Además de los caracteres pigmentarios y rasgos faciales se están iniciando estudios de búsqueda de asociación entre polimorfismos genéticos y morfotipo y estatura (Valenzuela, 2010).

Asimismo, la epigenética está demostrando ser de utilidad para la determinación de la edad. Sin duda, todo ello contribuirá en un futuro

próximo a mostrar la apariencia física de quienes dejaron tan solo un minúsculo vestigio biológico.

Termino esta presentación, con el deseo de haberles transmitido no solo el valor del análisis de ADN en la investigación Médico-Legal y Forense si no también lo apasionante, necesaria y heterogénea que es la **Genética Forense**.

Muchas gracias por su atención.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON S, BANKIER AT, BARRELL BG, DE BRUJIN MH, COULSON AR, DROUIN J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290: 457-465.

BAR W. et al., DNA recommendations. Further report of DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. International Society for Forensic Haemogenetics. *Int J Legal Med* 1997; 110(4): 175-176.

BRANICKI W, BRUDNIK U, WOJAS-PELC A. Interactions between HERC2, OCA2, and MC1R may influence human pigmentation phenotype. *Ann Hum Genet* 2009; 73(2):160-70.

BRANICKI W, LIU F, VAN DUIJN K, DRAUS-BARINI J, POŚPIECH E, WALSH S, KUPIEC T, WOJAS-PELC A, KAYSER M. Model-based prediction of human hair color using DNA variants. *Hum Genet* 2015; 129(4):443-54.

BUTLER JM. *Forensic DNA typing: Biology, Technology and Genetics of STR markers* (second Ed.) Elsevier LTD. Academic Press, London. 2005.

BUTLER JM. Forensic DNA typing by capillary electrophoresis using the ABI Prism 310 and 3100 genetic analyzers for STR analysis. *Electrophoresis* 2001; 25: 1397-1412.

BUTLER JM. *Forensic DNA Typing: Biology and Technology behind STR Markers*. Academic Press. 2001.

BUTLER JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci* 2006; 51: 253-265.

BUTLER JM. The future of forensic DNA analysis. *Philos Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci* 2015; 370: 577-579.

CARRACEDO A, BÄR W, LINCON P, MAYR W, MORLING N, OLAISEN B, et al. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic Sci Int* 2000; 110:79-85.

CHEN XJ, BUTOW RA. The organization and inheritance of the mitochondrial genome. *Nature Reviews Genetics* 2005; 6:815-825.

COBURN AF. Oswald Theodore Avery and DNA. *Perspect. Biol Med* 1969; 12 (4): 623–630.

CODIS. FBI Laboratory Seeks to Enhance the Efficiency of the National DNA Index System, press release, March 23, 2010. As of November 2, 2010: <http://www.fbi.gov/news/pressrel/press-releases/fbi-laboratory-seeks-to-enhance-the-efficiency-of-the-national-dna-index-system>

CORTE-REAL F. Forensic DNA databases. *Forensic Sci Int* 2004; 146(2): 143-4.

DAUSSET J. The mayor histocompatibility complex in man past, present and future concepts. Nobel Lecture. 8 December, 1980.

DECISION UE 2008/615/JAI DEL CONSEJO, destinada a transponer el Tratado de Prüm en el marco jurídico de la U.E. 2008.

DEMBINSKI GM, PICARD CJ. Evaluation of the IrisPlex DNA-based eye color prediction assay in a United States population. *Forensic Sci Int Genet* 2014; 9:111-7.

ESPECIALIDAD DE MEDICINA LEGAL Y FORENSE. Consejo Nacional de Especialidades Médicas Ministerio de Sanidad y Consumo y Ministerio de Educación y Cultura. 1996.

FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION “CODIS-NDIS Statistics,” undated web page. As of February 2010: <http://www.fbi.gov/about-us/lab/codis/ndis-statistics>

GHEP-ISFG. Grupo de Habla Española y Portuguesa de la International Society for Forensic Genetics. <http://www.gep-isfg.org>

GILL P, et al. Report of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI): formulation and testing of principles to evaluate STR multiplex. *Forensic Sci Int* 2000; 108 (1): 1-29.

GILL P. et al. The evolution of DNA databases. Recommendations for new European STR loci. *Forensic Sci Int* 2006; 156:242-244.

GILL P. et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA Analysis. *Nature Genetics* 1994; 6:130-135.

GLYNN J. Rosalind Franklin: 50 years on. Notes. *Rec R Soc* 2008; 62:253-255.

GÓMEZ J., et al. A review of the collaborative exercises on DNA typing of the Spanish and Portuguese ISFH Working Group. International Society for Forensic Haemogenetics. *Int J Legal Med* 1997; 110(5): 273-277.

GOULKA J, MATTHIES C, DISLEY E, STEINBERG P. Toward a Comparison of DNA Profiling and Databases in the United States and England (PDF) (Report). RAND Corporation. 2010; 6.

GRIMES EA, NOAKE PJ, DIXON L, URQUHART A. Sequence polymorphism in the human melanocortin 1 receptor gene as an indicator of the red hair phenotype. *Forensic Sci Int* 2001; 122(2-3):124-9.

GUSMAO L, BRION M, GONZALEZ-NEYRA A, LAREU M, CARRACEDO A. Y chromosome specific polymorphisms in forensic analysis. *Legal Medicine* 1999; 1:55-60.

GUSMAO L, BUTLER JM, CARRACEDO A, GILL P, KAYSER M, MAYR WR, MORLING N, PRINZ M, POEWER L, TYLER-SMITH C, SCHNEIDER PM, DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): :An update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Forensic Sci Int* 2006; 157:187-197.

INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.

INTERNATIONAL SOCIETY FOR FORENSIC GENETICS.
<http://www.isfg.org>

JEFFREYS AJ., et al. Individual-specific fingerprints of human DNA. *Nature* 1985; 316:76-79.

JEFFREYS AJ., et al. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature* 1985; 317:818-819.

JONES DA. Blood samples: probability of discrimination. *J Forensic Sci Soc* 1972; 12:355-359.

KAYSER M, SCHNEIDER PM. DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations. *Forensic Sci Int Genet* 2009; 3(3):154-61.

KARP G. Biología celular y molecular: Conceptos y experimentos, 5^a edición. Editorial MacGraw-Hill Interamericana 2009.

LANDSTEINER K, LEVINE P. On individual differences in human blood. *The Journal of Experimental Medicine* 1928; 47(5): 757-775.

MARTIN SH, SCNEIDER PM. A brief history of the formation of DNA databases in forensic science within Europe. *Forensic Sci Int* 2001; 119:3.

MARTIN PD, SCHMITTER H, SCHNEIDER PM. A brief history of the formation of DNA databases in forensic science within Europe. *Forensic Sci Int* 2001; 119 (2): 225-231.

McPHERSON JD, MARRA M, HILLIER L, WATERSTON RH, CHINWALLA A, WALLIS J, et al. A physical map of the human genome. *Nature*. 2001; 409: 934-941.

MULLIS KB. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. *Ann Biol Clin* 1990; 48(8): 579-582.

MULLIS, KB. et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro- the polymerase chain-reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 1986; 51: 263-273.

NAKAMURA Y, LEPPERT M, O'CONNELL R, WOLFF T, HOLM M, CULVER, et al. Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science* 1987; 235: 1616-1622.

OLBY R. The Third Man of the Double Helix. The Autobiography of Maurice Wilkins. *Science* 2003; 302(5653): 2071-2072.

PRIETO E, NUÑEZ C, BAETA M, JIMÉNEZ S, MARTINEZ B, DE PANCORBO MM. Forensic Spanish allele and haplotype database for a 17X-STR panel. *Forensic Sci Int Genetics* 2016; 24: 120-123.

PRINZ M, CARRACEDO A, MAYR WR, MORLING N, PARSONS TJ, SAJANTILA A, SCHEITHAUER R, SCHMITTER H, SCHNEIDER PM; INTERNATIONAL SOCIETY FOR FORENSIC GENETICS. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Sci Int Genet* 2007; 1(1):3-12.

SWGDAM Validation Guidelines for DNA Analysis Methods,
<http://swgdam.org/SWG DAM Validation Guidelines APPROVED Dec 2012.pdf>

SZIBOR R. X-Chromosomal markers: Past, present and future. *Forensic Sci Int Genetics* 2007; 1: 93-99.

THE FBI'S COMBINED DNA INDEX SYSTEM PROGRAM. April 2000a. As of November 19, 2010:

http://www.dna.gov/rawmedia_repository/7d77e285_f2c0_4098_8863_fe744ce72e3b

THE Y-CHROMOSOMAL CONSORTIUM. A nomenclature system for the tree of human Y-Chromosomal binary haplogroups. *Genome Research* 2002; 12:339-348.

VALENZUELA RK, HENDERSON MS, WALSH MH, GARRISON NA, KELCH JT, COHEN-BARAK O, ERICKSON DT, JOHN MEANEY F, BRUCE WALSH J, CHENG KC, ITO S, WAKAMATSU K, FRUDAKIS T, THOMAS M, BRILLIANT MH. Predicting phenotype from genotype: normal pigmentation. *J Forensic Sci* 2010; 55(2):315-22.

VOGEL F. Moderne probleme der Human genetik. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd*. 1959; 12:52-125.

VON DUNGERN E, HIRSCHFELD L. Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. *Z Immun Forsch*. 1910; 6:284-292.

VON DUNGERN E, HIRSCHFELD L. Ueber gruppenspezifische Strukturen des Blutes. *Z Immun Forsch*. 1911; 8:526-562.

WALSH S, LIU F, BALLANTYNE KN, VAN OVEN M, LAO O, KAYSER M.

IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Sci Int Genet* 2011; 5(3):170-80.

WATSON JD, CRICK FH. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*. 1953; 171(4361): 964-967.

WATSON JD, and CRICK F. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953; 171:737-738

WATSON JD, BAKER TA, BELL SP, GANN A, LEVINE M, LOSICK R. Molecular Biology of the Gene, 5^a edición. Editorial San Francisco: Benjamin Cummings 2004.

WILKINS, MHF, STOKES AR, WILSON HR. Molecular structure of Deoxypentose Nucleic Acids. *Nature*. 1953; 171: 738-740.