

ARTICULOS ESPECIALES

EL DNA EN LA ESCENA DEL CRIMEN

Germán Meleán Gumiel^{1*}

1. Instituto de Genética, Facultad de Medicina UMSA.

* Correspondencia a: g.melean@gmail.com

INTRODUCCIÓN.

Desde hace 23 años el DNA ha revolucionado la investigación forense, convirtiéndose, en un procedimiento indispensable y rutinario en la mayor parte de los países, debido a su gran sensibilidad y versatilidad. La utilidad del DNA en la resolución de casos forenses se debe a dos características fundamentales: 1) se encuentra en todos los seres vivos y 2) presenta variaciones entre especies e incluso entre sujetos de una misma especie. Estas características hacen que cualquier material biológico asociado con un caso legal pueda dar datos precisos sobre el origen del mismo.

Otra característica particularmente importante, del análisis del DNA, es que puede ser realizado a partir de muestras muy pequeñas, como por ejemplo: la saliva que se deja en la colilla del cigarrillo, un solo cabello dejado sobre las vestiduras de la víctima e, incluso, las pocas células epiteliales que se dejan al tocar un objeto con las manos.¹

La información obtenida por el análisis del DNA puede ser almacenada en grandes bases de datos, las cuales pueden ser rápidamente consultadas para tratar de encontrar un perfil de genético que coincida totalmente con el encontrado en la escena de un crimen, o incluso, que coincida parcialmente para la identificación de parientes del criminal.²

Entre las aplicaciones más frecuentes del análisis del DNA están: la vinculación de un sujeto con la escena de un crimen reciente; el análisis del DNA degradado de muestras biológicas almacenadas de casos antiguos, paralizados por falta de indicios; el análisis de paternidad o maternidad, la identificación de víctimas luego de un desastre de masas como un terremoto, un accidente aéreo o una explosión, en estos casos las víctimas pueden ser identificadas inequívocamente comparando el perfil genético obtenido de los restos encontrados con el perfil genético del material biológica dejado en la casa de la víctima (cabellos en el peine o saliva en el cepillo de dientes, más frecuentemente) o con el perfil genético de los padres o parientes.³

LOS INCIOS DE LA GENÉTICA FORENSE.

Los primeros estudios de la variabilidad genética en el hombre los realizó, hace más de un siglo, Landsteiner, quién descubrió los polimorfismos del sistema sanguíneo ABO. Poco tiempo después de este descubrimiento, los polimorfismos de ABO fueron aplicados a la resolución de crímenes. Este sistema genético puede demostrar conclusivamente que una muestra no pertenece a una

determinada persona, es decir, puede probar una exclusión, sin embargo, no puede demostrar la proveniencia de la muestra (atribución).⁴

En los años siguientes al descubrimiento de Landsteiner, se describieron diversos sistemas sanguíneos polimórficos y diversos métodos de electroforesis de proteínas aplicables a la investigación forense. Desafortunadamente estas pruebas enfrentaban problemas como degradación de las muestras y la interacción con enzimas bacterianas, pero el principal problema era la relativamente baja variabilidad y escasa informatividad. En el mejor de los casos, el patrón encontrado en un sujeto, tenía una probabilidad de coincidir con el de otra persona no emparentada de 1 en 1,000, esta probabilidad era mucho mayor en situaciones particulares de difícil análisis como el análisis de semen o muestras mezcladas (por ejemplo semen y fluidos vaginales en los casos de violación).⁵

DNA FINGERPRINTING.

Los DNA fingerprinting (en español se traduciría literalmente como huellas digitales de DNA), descubiertos por Alec Jeffreys en 1984⁶, fueron el verdadero inicio de la moderna genética forense y revolucionaron, al poco tiempo de su descubrimiento, las investigaciones forenses. Este método se basa en el análisis de secuencias hipervariables del DNA conocidas como minisatélites (loci, en los cuales, secuencias de entre 10 – 100 pb se repiten en tandem varias veces). La detección de los minisatélites se realizaba mediante la técnica Southern Blot que daba como resultado una serie de bandas marcadas en un papel, de donde viene el nombre de huellas digitales de DNA. Este método no solo puede probar una exclusión, también puede identificar al sujeto fuente de la muestra biológica analizada, con una probabilidad de 5×10^{-19} , de modo que los únicos individuos que pueden compartir un patrón de bandas son los gemelos monozigotos.^{5, 6}

PRUEBAS DE ÚNICO LOCUS.

Las pruebas de único locus, mejor conocidas como SLP (Single Locus Probes), sustituyeron luego de algunos años a los DNA fingerprinting debido a que el resultado de los SLPs es más fácilmente interpretable. Esta prueba se basa en el análisis de específicos minisatélites mediante enzimas de restricción. En cada prueba se incluían 4 loci de minisatélites, dando como resultado 8 bandas por individuo (1 por cada alelo de un locus) que eran mucho más sencillas de interpretar que las múltiples bandas de los DNA fingerprinting.⁶

La primera investigación criminal en la que se utilizó el DNA se valió justamente de los SLPs, este primer caso ocurrió precisamente en la ciudad de Alec Jeffreys (Leicester, Inglaterra) en 1986; alrededor de ese año se habían cometido dos crímenes con violación en Leicester, el patrón de los DNA fingerprinting y de los SLPs demostraba que ambos crímenes habían sido cometidos por la misma persona. La investigación forense tradicional había identificado un sospechoso, el cual, se había declarado culpable en el interrogatorio, sin embargo, el perfil de SLPs excluía a esta persona como autor de los crímenes, este sujeto se convirtió en el primer exonerado por una prueba de DNA. Para identificar al autor la policía recolectó las muestras biológicas de todos los varones mayores de 15 años del pueblo, en todas estas muestras se realizó la prueba SLP sin resultado alguno, al poco tiempo un habitante de la comunidad denunció a la policía haber escuchado casualmente que un hombre se ufana de haber burlado el muestreo de la policía. Tomada la muestra de este sujeto se obtuvo el patrón que coincidía con el encontrado en ambos crímenes, ante este hecho el hombre confesó sus delitos.⁷

ANÁLISIS DE STRs MEDIANTE LA PCR.

La introducción de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en la genética forense, incrementó enormemente la sensibilidad de la prueba, permitiendo obtener perfiles de DNA a partir de mínimas muestras biológicas incluso con DNA degradado. Las primeras pruebas basadas en la PCR analizaban un pequeño número de polimorfismos de única base (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) del gen HLA-DQ1.⁸

En 1991 Edwards et al., describieron los primeros STRs (Short Tandem Repeat) con utilidad forense.⁹ Los STR son regiones variables del genoma que presentan secuencias de entre 2 – 9 bp,

repetidas en tandem. Desde este descubrimiento, las técnicas de análisis de STRs mediante la PCR han sustituido en todo el planeta o los otros tipos de identificación genética, debido a su gran poder de discriminación, sensibilidad y efectividad incluso en muestras mezcladas.⁹

En la actualidad las investigación de genética forense se realiza mediante el análisis simultáneo de varios loci STRs autosómicos (localizados en cromosomas no sexuales). Junto con los STRs se han creado sistemas automatizados de análisis, basados principalmente en la electroforesis capilar utilizada para la detección de primers marcados con fluorocromos. Esta automatización reduce mucho los costos y los tiempos del análisis del DNA, al mismo tiempo, ha permitido la creación de kits comerciales multiplex, en los cuales en un solo tubo se introducen los primers para varios STRs. El uso de estos kits comerciales se ha incrementado rápidamente tanto que en la actualidad se recomienda que la investigación genética forense se lleve a cabo siempre con uno de estos kits, esto ha permitido que los laboratorios de diferentes partes del mundo analicen los mismos loci STRs con las mismas condiciones, haciendo de este modo comparable sus resultados.¹⁰

La primera prueba ampliamente usada de tipificación de STRs (denominada “quadruplex”), consistía en el análisis 4 STRs.¹¹ El perfil obtenido con el quadruplex tenía una relativamente alta probabilidad de coincidir con el de otro sujeto no emparentado (1 en 10,000), por lo que, en los casos examinados con este método se utilizaban simultáneamente los SLPs. Para mejorar el poder de discriminación del quadruplex se introdujeron 2 loci STRs hipervariables (la prueba así conformada se denominaba SGM por Second-Generation Multiplex) con los cuales la probabilidad de coincidencia entre de dos perfiles se redujo a 1 en 50 millones. Esta prueba mejorada, incluía el análisis del gen de la amelogenina que permitía la identificación del sexo del probando.⁹ En el año 2000 se adicionaron otros 4 STRs al clásico panel, conociéndose a esta nueva prueba como SGM plus, con los 10 STRs el SGMplus redujo la probabilidad de coincidencia menos de 1 en 1013, número que supera a la entera población mundial.¹²

En la actualidad, la mayor parte de los países han estandarizado el número de STRs que se deben analizar, por ejemplo, la prueba utilizada por el FBI de los EEUU (sistema CODIS) incluye 13 STRs más el gen de la amelogenina, mientras en Alemania utilizan solamente 8 STRs.¹⁴ Las organizaciones internacionales de genética forense han recomendado la utilización de los mismos STR con el fin de poder intercambiar información entre países y de poder elaborar bases de datos que puedan ser consultadas por los investigadores de todo el mundo para encontrar un perfil que coincida con el obtenido en la escena del crimen.¹⁴

BASES DE DATOS DE PERFILES DE STRs AUTOSÓMICOS.

Los avances en la automatización del análisis de STRs y la standardización de los métodos entre los países ha permitido la creación de diversas bases de datos que contienen perfiles de STRs, en algunos casos solo de criminales sentenciados, y en otros de todo aquel sujeto que haya sido sospechoso de un delito.¹⁵ Los criterios para incluir a un sujeto, así como para eliminar un registro, de las bases de datos, varían de país a país. La base de datos más grande es la del Reino Unido que incluye 2.5 millones de perfiles de sujetos y alrededor de 200,000 perfiles recabados en escenas de crímenes.¹⁵

Las bases de datos tienen programas computarizados que pueden identificar un perfil que coincida totalmente con el buscado. En los últimos años también se están realizando búsquedas, en las bases de datos, de perfiles que no coinciden totalmente con el perfil analizado, sino solo parcialmente para encontrar a parientes del sospechoso.¹²

HUELLAS DIGITALES O DNA?

Una de las preguntas más recurrentes acerca del análisis del DNA, es si esta prueba tiene mayor validez que las huellas digitales en la identificación de personas. Antes de responder a esta pregunta se tiene, necesariamente, comprender que se entiende por identificación dactiloscópica:

La identificación dactiloscópica es la identificación de personas a través de las huellas digitales. Como es conocido, sobre la piel de la cara palmar de los dedos existen surcos y crestas características, las cuales, se forman en los primeros meses de vida intrauterina y se mantienen inalterables en forma y posición durante toda la vida. Cuando se toca un objeto con los dedos las secreciones presentes en la piel reproducen fielmente el patrón de crestas y surcos de la huella, estas huellas pueden ser obtenidas de la escena del crimen mediante diversas técnicas, en todas ellas se obtiene finalmente una fotografía de tamaño natural de la huella digital. En esta fotografía, inicialmente, se identifican ciertas características de las crestas y surcos, como las interrupciones de línea, la dirección de los arcos, los puntos de cruce de líneas, etc.; posteriormente se compara la huella encontrada en el lugar del delito con la huella del sospechoso o los sospechosos, buscando las mismas características encontradas en la primera fase del análisis, a través de sistemas manuales o automáticos de lectura. De acuerdo a las leyes de cada país se considera que una huella es atribuible a una determinada persona si se encuentran un cierto número de características comunes en forma y posición (por ejemplo en la justicia italiana se deben encontrar al menos 16 características comunes).¹⁶

A pesar de que la utilidad de las huellas digitales en la identificación de personas no puede discutirse, se puede fácilmente comprender que el método utilizado para la comparación de dos huellas es del todo subjetivo.¹⁷ El dactiloscopista inicialmente busca las características que considere en un la huella encontrada en el lugar del crimen, si luego encuentra las mismas características en la huella del sospechoso concluye por la atribución de la identidad. En este proceso no existe ninguna valoración de tipo estadístico ni consideración alguna sobre la distribución que podría tener una determinada huella en la población, ni tampoco da un valor de probabilidad de que esta huella corresponda a otra persona y no al sujeto analizado.

Por todo lo que ha sido expuesto hasta ahora, sabemos que el análisis del DNA es muy diferente al análisis de las huellas digitales. Sobretudo, en el análisis del DNA la subjetividad del experto está del todo ausente, es más, continuamente se trata de estandarizar los protocolos de análisis de los diferentes laboratorios para el tipo de resultado. El estudio del DNA es uno de los pocos que impone un tratamiento rigidamente estadístico de la información obtenida. El término mismo de probabilidad, en el análisis del DNA, adquiere un valor muy preciso, como no ocurre en las otras disciplinas forenses.

Por ejemplo en experto balístico que debe comparar dos proyectiles para verificar si fueron disparados por la misma arma, no dudaría en definir como muy probable esta situación cuando encuentre marcas idénticas en ambos proyectiles. En este caso difícilmente el juez o el perito de la contraparte pedirán al experto traducir en términos numéricos esta probabilidad. En la determinación de un perfil genético, cualquier tipo de formulación que se quiera usar debe venir de todos modos mencionada en forma de número, es decir, un valor que puede ser comparado con el mundo real circunstante.

BIBLIOGRAFÍA.

1. McNevin D, Wilson-Wilde L, Robertson J, Kyd J, Lennard C Short tandem repeat (STR) genotyping of keratinised hair. Part 1. Review of current status and knowledge gaps. *Forensic Sci Int.* 2005 Oct 29; 153(2-3):237-46.
2. Schneider PM, Martin PD Criminal DNA databases: the European situation. *Forensic Sci Int.* 2001 Jun 15; 119(2):232-8.

3. Leclair B, Shaler R, Carmody GR, Eliason K, Hendrickson BC, Judkins T, Norton MJ, Sears C, Scholl T. Bioinformatics and human identification in mass fatality incidents: the world trade center. disaster. J Forensic Sci. 2007 Jul; 52(4):806-19. Epub 2007 May 25.
4. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. Nature. 1985 Jul 4-10; 316(6023):76-9.
5. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature. 1985 Mar 7-13; 314(6006):67-73.
6. Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA 'fingerprints'. Nature. 1985 Dec 12-18; 318(6046):577-9.
7. Jeffrey A. Genetic fingerprinting. Nat Med. 2005 Oct; 11(10):1035-9.
8. Helmuth R, Fildes N, Blake E, Luce MC, Chimera J, Madej R, Gorodezky C, Stoneking M, Schmill N, Klitz W, et al. HLA-DQ alpha allele and genotype frequencies in various human populations, determined by using enzymatic amplification and oligonucleotide probes. Am J Hum Genet. 1990 Sep; 47(3):515-23.
9. Gill P, Urquhart A, Millican E, Oldroyd N, Watson S, Sparkes R, Kimpton CP. A new method of STR interpretation using inferential logic--development of a criminal intelligence database. Int J Legal Med. 1996; 109(1):14-22.
10. Kimpton CP, Gill P, Walton A, Urquhart A, Millican ES, Adams M. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. PCR Methods Appl. 1993 Aug;3(1):13-22.
11. Sullivan KM, Mannucci A, Kimpton CP, Gill P. A rapid and quantitative DNA sex test: fluorescence-based PCR analysis of X-Y homologous gene amelogenin. Biotechniques. 1993 Oct;15(4):636-8, 640-1.
12. Cotton EA, Allsop RF, Guest JL, Frazier RR, Koumi P, Callow IP, Seager A, Sparkes RL. Validation of the AMPFISTR SGM plus system for use in forensic casework. Forensic Sci Int. 2000 Aug 14; 112(2-3):151-61.
13. Moretti TR, Baumstark AL, Defenbaugh DA, Keys KM, Smerick JB, Budowle B. Validation of short tandem repeats (STRs) for forensic usage: performance testing of fluorescent multiplex STR systems and analysis of authentic and simulated forensic samples. J Forensic Sci. 2001 May;46(3):647-60.
14. Junge A, Lederer T, Braunschweiger G, Madea B Validation of the multiplex kit genRESMPX-2 for forensic casework analysis. Int J Legal Med. 2003 Dec;117(6):317-25. Epub 2003 Oct 10.

15. Gill P, Sparkes R, Fereday L, Werrett DJ. Report of the European Network of Forensic Science Institutes (ENSFI): formulation and testing of principles to evaluate STR multiplexes. *Forensic Sci Int.* 2000 Jan 24; 108(1):1-29.
16. Broeders AP. Of earprints, fingerprints, scent dogs, cot deaths and cognitive contamination- a brief look at the present state of play in the forensic arena. *Forensic Sci Int.* 2006 Jun 2;159(2-3):148-57. Epub 2005 Oct 13.
17. Stoney DA what made us ever think we could individualize using statistics? *J Forensic Sci Soc.* 1991 Apr-Jun;31(2):197-9