



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**PARA OBTENER EL GRADO DE
BIÓLOGO**

**EXTRACCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ADN NUCLEAR EN
VÍCTIMAS DEL DELITO**

QUE PRESENTA EL ALUMNO:

**Gabriel Enrique García Castillo
Matrícula
2143024473**

ASESORES

Dr. Facundo Rivera Becerril (UAM-Xochimilco)

Q.F.B. Marco Antonio Abaunza Aloa (PGJ)

Ciudad de México

Junio-2020

ÍNDICE	Pág.
1. Marco institucional.....	3
2. Introducción.....	3
3. Antecedentes.....	4
4. Ubicación geográfica.....	4
5. Objetivos.....	5
6. Especificación de las actividades.....	5
7. Impacto de las actividades.....	6
8. Actividades desarrolladas.....	7
9. Habilidades y aprendizaje.....	7
10. Fundamento de las actividades.....	8
11. Referencias.....	13

1- MARCO INSTITUCIONAL

La PGJ se encarga de representar legalmente los intereses de los habitantes de la Ciudad de México a través de la implementación de acciones eficaces y eficientes en la investigación de los delitos, la persecución de los imputados y la procuración de justicia con respeto irrestricto a los derechos humanos, con el efecto de fortalecer la confianza y seguridad en la convivencia de los habitantes.

En la PGJ se encuentra la Coordinación General de Servicios Periciales (CGSP) que tiene la función de auxiliar al Ministerio Público (MP) y otras autoridades competentes en el esclarecimiento de los hechos presuntamente delictivos del orden común. Este esclarecimiento se realiza mediante peritajes y estudios especializados en alguna ciencia, técnica, disciplina o arte, aprovechando para ello el uso de las herramientas tecnológicas modernas para lograr resultados confiables que servirán de base al MP en las investigaciones y en la determinación de la averiguación previa.

2 INTRODUCCIÓN

La Criminalística es el conjunto de disciplinas o especialidades que aplican fundamentalmente los conocimientos, métodos y técnicas de investigación de las ciencias naturales en el examen del material sensible significativo relacionado con un supuesto hecho delictivo, con el fin de determinar, en auxilio de los órganos de administrar justicia su existencia, o bien reconstruirlo o bien señalar y precisar la intervención de uno o varios sujetos en el mismo.

Los Servicios Periciales en México, han tenido un desarrollo y aceptación muy importante en las últimas décadas. Se han transformado los laboratorios, los equipos e instrumentos para participar en la investigación científica.

Proporcionando para el Derecho en sus diferentes ramas, resultados muy satisfactorios y con ello la verdadera magnitud de la aplicación de la Criminalística para la Procuración, Impartición y Administración de Justicia (Procuraduría General de Justicia de la Ciudad de México, 2019).

La participación de los Servicios Periciales en la investigación de todo hecho presuntamente delictivo es parte de un proceso fundamental para poder determinar una vinculación real y científica de un indicio encontrado en un lugar de hechos, la investigación de este y determinar su actuación en la escena del crimen una de las especialidades periciales que integran a la Coordinación General de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia de la Ciudad de México es la genética forense (Procuraduría General de Justicia de la Ciudad de México, 2019).

El Laboratorio de Genética es un área especializada encargada de realizar estudios en materia de Genética Forense, considerada como una especialidad de las Ciencias Forenses que se ocupa del estudio de la herencia biológica aplicada a problemas de orden legal a través del análisis de la variabilidad presente en el ácido desoxirribonucleico. Los estudios de ADN como también se les llama permiten establecer relaciones de parentesco biológico, teniendo como objetivo auxiliar a jueces y otras autoridades en casos donde se desconoce o se duda la relación de parentesco biológico entre individuos, pero también, cuando se busca identificar de quien procede la evidencia biológica dejada en un escenario de delito (Poder Judicial de la Ciudad de México, 2019).

3 ANTECEDENTES

La estructura del ADN fue descubierta por James Watson y Francis Crick en 1953, lo cual permitió afrontar su estudio de forma directa, evitando los dificultosos y complejos caminos indirectos que se habían utilizado hasta entonces. La medicina forense ha tenido notables avances, particularmente en los últimos 20 años, motivados por los nuevos conocimientos en Bioquímica e Ingeniería Genética. La prueba de ADN se desarrolla en la década de 1980. Con la aplicación de Genética Forense, se define el uso de ciertas técnicas empleadas para la identificación de los individuos basándose en el análisis de ADN. Se utiliza el Análisis de ADN como herramienta de investigación criminalística, para apoyar las decisiones civiles y penales, en el marco jurídico actual. (Estevez 2018)

La identificación de fluido seminal constituye un viejo problema en Criminalística. En 1826, Olliver d'Angers y Barruel informaron sobre un caso de agresión sexual donde se sospechaba que ciertas manchas en la ropa de la víctima fueron hechas intencionalmente con grasa de origen animal. Los expertos analizaron las ropas con respecto a su solubilidad en agua, naturaleza, color y conducta en alcohol absoluto. Ambos concluyeron que la mancha era de semen. En aquella época los investigadores se guiaban solo por estos parámetros.

Desde entonces no se ha generado ningún reporte de trabajos de investigación sobre manchas de semen en diferentes soportes de telas empleando el Método Indirecto para manchas de semen.

4 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

Las actividades del servicio social fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Genética Forense de la Coordinación General de Servicios Periciales pertenecientes a la Procuraduría General de Justicia, ubicada en Av. Coyoacán 1635, Col del Valle Centro, 03100 Ciudad de México.

5 OBJETIVOS

Objetivo general

Coadyuvar en mejorar la calidad de la atención que se brinda a las víctimas del delito y ciudadanos que acuden a las fiscalías, centros de atención a víctimas y demás áreas, así como a las unidades administrativas de la Procuraduría General de Justicia.

Objetivos particulares

Investigar los métodos de criminalística y aplicarlos en casos reales.

Utilizar técnicas de criminalística enfocadas en el ADN nuclear como apoyo para el esclarecimiento de delitos.

6 ESPECIFICACIONES DE LAS ACTIVIDADES

La genética forense es el “análisis de los polimorfismos responsables de la variabilidad genética en la población humana aplicados a los problemas judiciales”. Estos problemas incluyen las investigaciones de paternidad, dadas por una reclamación por parte de uno de los progenitores del menor en cuestión; la criminalística, especializada en asesinatos y delitos sexuales con ayuda de restos orgánicos humanos (sangre, folículos pilosos, saliva, esperma y piel); o bien la identificación de restos cadavéricos, como fue el caso de la familia Romanov, o de personas desaparecidas, como en las narcofosas (Rodríguez, 2014).

Para la identificación humana es elemental contar con marcadores de ADN que exhiban la más alta variación posible en la población, o al menos un número de marcadores polimórficos para que se puedan combinar con el fin de discriminar entre muestras.

El tamaño pequeño de los alelos de “repeticiones cortas en tándem”, STR (100-400 pb), comparado con el de los alelos minisatélites (400-1000 pb), hace que los marcadores STR sean mejores candidatos para usarlos en el sistema forense en donde es común encontrar muestras con ADN degradado. La amplificación por PCR de muestras de ADN degradado puede realizarse mejor con productos de menor tamaño (Lorente, 2004).

La semiología forense es el estudio de los rastros de semen y manchas presentes en aquellos delitos cometidos contra la libertad sexual de las personas de sexo femenino y masculino e inclusive de menores de edad.

La identificación del semen es de vital importancia en la investigación criminal por violación y otros delitos que tienen implícita la agresión sexual. El líquido

espermático se puede presentar al investigador en cuatro formas: como mancha; impregnado en un tejido; como fluido, mezclado con otros fluidos corporales como la secreción vaginal y, por último, como semen o líquido espermático.

Uno de los procedimientos más comunes y usados para la identificación del semen se centra en la detección de los espermatozoides o de la actividad de la fosfatasa ácida prostática. Los métodos que incluyen la detección de espermina, colina o antígenos del semen son los menos utilizados; desafortunadamente ninguno de estos procedimientos está exento de uno o más problemas.

También existen otras técnicas y métodos que son empleados en el diagnóstico genérico, que van desde las pruebas cristalográficas, orientadas en la formación de microcristales, las técnicas cromatográficas y electroforéticas, que hoy en día han perdido el interés de los investigadores, hasta los métodos inmunológicos a través de técnicas inmunoenzimáticas que demuestran la especificidad proteica del órgano que las produce.

La amilasa es una enzima que se encuentra en alto nivel en la saliva, aunque también se puede encontrar en niveles muy bajos en el semen y en el material vaginal; la saliva contiene ADN y puede ser sometida a análisis de comparación de perfiles genéticos.

La identificación de saliva encontrada en el cuerpo de la víctima o en el lugar de los hechos permite determinar el ADN del sospechoso para confirmar su identidad; las técnicas y métodos aplicados se basan en la identificación de la amilasa salival dando resultados positivos en un período corto de 5 minutos. La prueba del almidón-yodo se basa en que el almidón reacciona con el yodo y forma un complejo de color azul, el mismo que al entrar en contacto con la amilasa salival libera el yodo al reaccionar con el almidón, perdiendo su coloración gradualmente. Los métodos y técnicas de los marcadores genéticos son las pruebas confirmatorias en la actualidad. Otras técnicas de identificación son las tiras y las nebulizaciones.

7 Impacto de las actividades

Las actividades realizadas como parte del servicio social apoyaron las investigaciones bioquímicas, genéticas, hematológicas y toxicológicas que se llevan a cabo. También participé en la composición fisicoquímica, química y biológica de medicamentos; en el sustento de las investigaciones químicas, clínicas y farmacéutico biológicas en el ámbito de la medicina, así como en las pruebas bioquímicas y en la realización de los exámenes macro y microscópicos de las muestras biológicas de sangre y orina.

La prestación de los servicios anteriores benefició a distintos grupos de la población como personas con discapacidad, enfermos, grupos étnicos, madres solteras adolescentes, niños en situación de calle, población con adicciones, población con VIH SIDA, sexo servidores(as), víctimas de violencia intrafamiliar, así como adultos mayores.

8 Actividades desarrolladas

Las actividades del servicio social estuvieron relacionadas con la obtención de perfiles genéticos, el examen semiológico y la determinación de amilasa salival. Las muestras biológicas que se utilizaron fueron propias de la Procuraduría, por lo cual los datos de procedencia permanecieron anónimos.

Los perfiles genéticos se obtienen a partir de una muestra biológica que arroja un conjunto de genotipos de varias STR en el ADN para su individualización. El resultado se reporta como un perfil genético de origen masculino o femenino, útil para realizar estudios de identificación de personas vivas o muertas, así como confrontas genéticas.

El estudio semiológico consiste en la búsqueda de semen aplicando pruebas orientativas/presuntivas. Para ello, se utiliza la lámpara con emisión de luz ultravioleta, así como la reacción química con desarrollo de color usando el reactivo para la identificación de fosfatasa ácida de origen prostático; lo anterior se confirma mediante la visualización al microscopio de células espermáticas y la prueba de identificación para el antígeno específico prostático (PSA) o P30. El resultado de este estudio se reporta como la presencia o ausencia de células espermáticas, así como la identificación de semen.

En la determinación de la amilasa salival en casos forenses, particularmente de índole sexual o crímenes violentos, la detección de esta enzima presente en la saliva puede ser una prueba invaluable que provee la asociación de la víctima y el sospechoso. Una vez detectada mediante pruebas colorimétricas, estos restos pueden ser usados para obtener el perfil genético de las muestras epiteliales nucleadas contenidas en la saliva, que son fuente potencial de ADN. El resultado de este estudio se reporta como positivo o negativo para la identificación de la amilasa salival; es posible obtener un perfil genético a partir de células nucleadas presentes, para posteriormente confrontarlas.

9 Habilidades y aprendizajes

Las actividades vigentes y pertinentes para el área de genética involucran el aprendizaje, la estandarización y la aplicación de técnicas de genética forense. Durante la ejecución de actividades de este servicio social fue adquirido un

adiestramiento teórico-metodológico, incluyendo el manejo de muestras biológicas y de material de laboratorio.

10 Fundamento de las actividades

a) Identificación de la víctima

De las muestras biológicas como son cabello, sangre, saliva, tejido, diente o hueso de la víctima, se obtuvieron perfiles genéticos (alfanuméricos) del ADN. Estos perfiles se confrontaron con los perfiles genéticos de sus familiares biológicos ascendentes y descendentes. Los perfiles genéticos se conforman por patrones que se heredan de la madre, del padre biológico, y se heredan a los descendientes. Al ver y analizar que la víctima presenta la herencia genética de los padres, se establece la identidad. Dicho estudio se sustenta con un análisis estadístico con el software denominado CODIS (sistema de índice combinado de ADN), dando valores de confiabilidad en la identificación.

b) Identificación del victimario

En el lugar del hallazgo y en la víctima se localizan indicios biológicos ajenos a la víctima. De éstos se obtiene el perfil genético del probable responsable. Dicho perfil genético se archiva en el CODIS para posteriores confrontas, con perfiles genéticos de probables responsables que el Ministerio Público requiera.

c) Identificación de relación de parentesco genético

La relación de parentesco genético de víctimas se establece a través de sus perfiles genéticos y el de sus familiares biológicos genéticos como son padre, madre, hijas, hijos, hermana, hermano. Estos perfiles se cargan y archivan en el CODIS para su proceso y análisis estadístico para obtener la información referente a la relación de parentesco que presente con la familia que se relaciona. El personal de servicios periciales le solicita a la víctima como a los familiares su consentimiento por escrito para que otorguen muestras biológicas para el estudio en genética. Así también solicita a la Autoridad la cadena de custodia de las muestras biológicas de la víctima y familiares.

2. Metodología de la intervención

a) Clasificación, levantamiento y embalaje de indicios y evidencias obtenidas en el lugar de los hechos y/o hallazgo y de la víctima

El Ministerio Público solicita la presencia en el lugar de los hechos y/o del hallazgo, de personal de servicios periciales y de especialistas en genética forense con la finalidad de llevar a cabo la búsqueda de indicios de tipo biológico para la

identidad de la víctima en el caso que la autoridad la clasifique como desconocida. En dicho lugar clasifican los indicios biológicos como sangre, saliva, semen, cabellos, tejido ungueal (uñas) y dientes. Una vez clasificados los indicios se levantan y embalan, sellan y preservan de acuerdo con el manual. En este punto la autoridad elabora el documento cadena de custodia para darle el debido cumplimiento a los indicios en la investigación.

b) Traslado y envío de muestras al laboratorio

Una vez que los indicios ya se encuentran embalados, preservados, sellados con la respectiva cadena de custodia, la autoridad es la encargada de enviarlos al laboratorio para su estudio.

d) Cadena de custodia

Los indicios y muestras deben registrarse en el documento de cadena de custodia, la cual genera la trazabilidad y responsabilidad del Ministerio Público, de los Servicios Periciales y de la Policía facultada que intervienen en el estudio y preservación de los indicios y muestras de referencia en la investigación.

e) Muestras biológicas de referencia de familiares

En la búsqueda de la identidad de la víctima por medio del ADN, se requiere de parámetros de referencia de ADN. El Ministerio Público proporcionará las muestras biológicas de referencia de los familiares en línea ascendente vertical y horizontal, para hacer el análisis y confrontas del ADN entre la víctima y los familiares.

3. Técnicas de estudio aplicadas en genética forense

Análisis de ADN nuclear

La extracción de ADN para el análisis de STR se hizo a partir de las manchas café-rojizo de sangre de indicios (ropa, muestras de familiares). Se tomaron dos círculos de 1.2 mm y la extracción se llevó a cabo con el kit DNA IQ SYSTEM™, con una elución final de 50 µl.

Una muestra biológica obtenida de una escena del crimen en forma de mancha ya sea de sangre o de semen, de sangre líquida de un sospechoso o un problema de paternidad, contiene un sinnúmero de sustancias además del ADN. Una molécula de ADN puede ser separada de otros materiales celulares y posteriormente ser examinada. Las proteínas celulares que empaquetan y protegen el ADN en el ambiente celular pueden inhibir su análisis. Por esto, los métodos de extracción

son desarrollados con la capacidad para separar proteínas y otros materiales celulares de las moléculas de ADN.

Existen diversos procedimientos de extracción que deben cumplir con la misión de extraer y purificar el ADN, pero la extracción exacta o aislamiento del ADN varía dependiendo del tipo de evidencia biológica o condición.

1) Análisis de repeticiones cortas en tándem (STR)

- La amplificación del material genético se realizó por medio de la técnica de PCR Multiplex donde se utilizaron reactivos comerciales de uso forense: Global Filer™, Power Plex® Fusion System y Power Plex® Y23 System e Investigator® Argus X12 QS.

- La genotipificación fue realizada por electroforesis capilar en un analizador genético ABI 3500 y el programa para el análisis de STR GeneMapper ID-X v.1.4, para la obtención de datos genéticos forenses.

Para la obtención del perfil genético (ADN nuclear) se revisaron los datos del secuenciador ABI 3500 en el programa para análisis de STR, IdentiFiler, donde fueron mostradas las gráficas de marcadores (Figura 1).

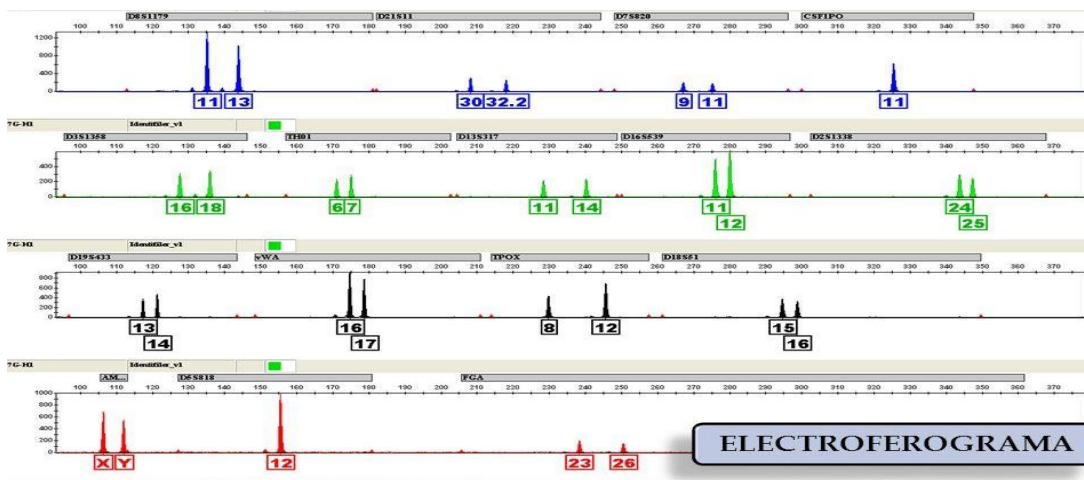


Figura 1. Perfil genético obtenido de IdentiFiler.

Para el análisis de alelos STR es importante tener en cuenta los siguientes puntos:

- Las designaciones de alelos STR se hacen comparando el tamaño relativo de picos de muestra a tamaños de alelos de escalera alélica.

- Los tamaños de alelos STR se basan en una medida de la relativa movilidad electroforética de productos de PCR amplificados, definido por las posiciones del

cebador, en comparación con un segmento interno de tamaño estándar utilizando un algoritmo de tamaño específico.

- Los alelos STR pueden variar en su longitud total (número de unidades de repetición), con su secuencia interna de repeticiones, y en la región de flaqueo.

Alelos nulos

- Se considera alelo nulo cuando el alelo está presente en la muestra de ADN pero no puede ser amplificado debido a un cambio de nucleótido en un cebador, o sitio de unión.
- El abandono del alelo es un problema porque los heterocigotos en la muestra aparecen erróneamente como homocigotos.
- Algunos cebadores de PCR pueden producir diferentes resultados en muestras procedentes de la misma fuente, causando confusión en las lecturas.
- Los productos de tartamudeo son picos que se repiten menos que el alelo verdadero como resultado del deslizamiento de la hebra durante la síntesis de ADN; estos tartamudeos no son tomados en cuenta.

Posterior al análisis de los resultados y a su revisión detallada, los perfiles genéticos son ingresados y confrontados con la base de datos del laboratorio CODIS; se elabora el dictamen que posteriormente se entrega al Ministerio Público. En la tabla 1 se muestra cómo se entregan los resultados obtenidos del secuenciador y de la misma forma se ingresan al CODIS.

Tabla (1) Frecuencia alélica ingresada en el sistema de índice combinado de ADN (CODIS)

Marcador	Alelo
D8S1179	13,14
D21S11	28
D7S820	8,11
CSF1PO	10,12
D3S1358	14,16
TH01	7,9

D16S539	8,13
---------	------

En la Fiscalía General de Justicia de la Ciudad de México se cuenta con una base de datos de perfiles genéticos. En el Estado de México hay una base de datos más robusta, donde se guardan perfiles genéticos clasificados en perfiles de delincuentes, de violadores, o de asesinos seriales, y por último, de restos de personas desaparecidas. Algunos laboratorios particulares que laboran en el país también cuentan con una base de datos que utilizan para fines de investigación. Todos estos laboratorios de genética forense se basan en la creación de bancos de datos genéticos del CODIS, el cual por su robustez, sirve como base para otras bases de datos, por lo que debe cumplir con ciertos criterios de calidad, soporte tecnológico y funcionamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cal Teba. M. L. 2001. Análisis de polimorfismos de ADN microsatélite de cromosoma Y. Estudio de la población de Galicia y aplicaciones forenses. Tesis Doctoral. Universidad Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 181 p.

Cortázar M. A., Silva R. E. 2004. Métodos fisicoquímicos en biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Estévez J. C. 2018. Formación criminalística. Enfoque pericial. Algunos aspectos de la investigación científica forense. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Instituto de Ciencias Forenses. 2019. Genética. Recuperado el 21 de octubre de 2019, www.incifocdmx.gob.mx/genetica/

Lorente J. A. 2004. Un detective llamado ADN. Temas de Hoy, Madrid.

Magallanes, J. 2019. Reconoce EEUU a México como uno de los países más avanzados en ciencia forense. 1, de MVS noticias Sitio web: <https://mvsnoticias.com/noticias/nacionales/reconoce-eeuu-a-mexico-como-uno-de-lospaises-mas-avanzados-en-ciencia-forense/>.

Poder Judicial de la Ciudad de México. (2019). *Genética*. Recuperado el 21 de Octubre de 2019, de <https://www.incifocdmx.gob.mx/genetica/>

Procuraduría General de Justicia de la Ciudad de México. 2019. Servicios Periciales. Coordinación General de Servicios Periciales. Recuperado el 21 de octubre de 2019, de Especialidades Periciales: www.pgj.cdmx.gob.mx/storage/app/media/especialidades.pdf

Rodríguez González, N. 2014. 60 años del ADN. Universidad Nacional Autónoma de México. Sitio web: http://www.dgdc.unam.mx/assets/publicaciones/cuadernosde-periodismo-cientifico/cpc_01.pdf.