

IDENTIFICACIÓN DEL SEXO EN EVIDENCIAS BIOLÓGICAS DE ORIGEN HUMANO MEDIANTE AMPLIFICACIÓN DE LA SECUENCIA ALFA CENTROMÉRICA DEL CROMOSOMA “Y”.

CARMA A. IRIS ¹, AGUILAR R. RAFAEL⁺²

1) Servicio Nacional de Medicina y Ciencias Forenses (SENAMECF). 2) Ministerio Público (MP)

RESUMEN

La determinación del sexo a partir de los elementos o evidencias de origen biológico, es fundamental en la investigación criminalística, como parte de una investigación penal, para tal fin se han desarrollado desde la última década del siglo pasado en la genética forense y en la biología molecular métodos basados en la aplicación de kit comerciales, como el de la Amelogenina, proteína codificada en los cromosomas sexuales. Esta es la base de su amplio uso en las ciencias forenses para la determinación genética del sexo. No obstante en algunos casos, los resultados del test de la amelogenina no se corresponden con el sexo legal o fenotípico del individuo, bien por deleciones o mutaciones en la secuencia del gen, por aneuploidia, o por cambios en las bases nucleotídicas del gen. El presente trabajo presenta una alternativa para corregir estos errores que son potencialmente graves en el curso de las investigaciones. A partir de muestras sanguíneas se amplificaron mediante PCR la secuencia de los satélites alfa de los cromosomas Y, los cuales son fragmentos altamente repetitivos de 171 pb específicos de los centrómeros de este. El aplicon fue corrido mediante electroforesis en geles de poliacrilamida y de agarosa, posteriormente teñidos o coloreados con bromuro de etidio y nitrato de plata, confirmando de esta manera el origen masculino de la muestra analizada, al ser comparadas siempre con escaleras alélicas conocidas.

Descriptores: Genética forense, AMELY, Centrómeros, Cromosoma Y, satélites alfa, Identificación del sexo.

INTRODUCCIÓN

La Criminalística y las Ciencias Forense son especialidades cuya finalidad es ayudar a la resolución de asuntos legales, civiles y criminales. En los estudios forenses están comprometidas ciencias tan diversas como biología, química, física, antropología, odontología y matemáticas e incluye disciplinas tan variadas como botánica, balística, análisis de la huella digitales, grafotecnia, etc.

En cuanto a los aportes de las referidas disciplinas científicas, cabe referirse al desarrollo de hace más de un siglo de los primeros marcadores biológicos, como lo fueron los grupos sanguíneos humanos ABO (Karl Lanstainer 1.900). Este sistema genético simple sólo podía excluir, es decir, solo indica los individuos a los cuales no les corresponde esa muestra de sangre encontrada en la escena del crimen (por ejemplo) y no permite identificar el individuo al cual le pertenece dicha muestra. Entre las décadas de 1.920 y 1.950 se descubrieron otros grupos sanguíneos, sistema MNSs, Rhesus, Lewis, Kell, haptoglobina, Duffy. En la década

de los ochenta se descubrieron y se utilizaron variantes electroforéticas de enzimas de las células rojas como la fosfoglucomutasa (PGM). En el transcurso de los últimos 20 años se desarrollaron herramientas biológicas que revolucionaron la investigación en ciencias forenses, el análisis del ADN.

Todos los seres vivos tienen ADN, este exhibe variabilidad entre especies y entre individuos de una misma especie. Todo material biológico asociado a un caso legal contiene información sobre su origen. La revolución del ADN comenzó en el año 1984 con el descubrimiento de loci hipervariables, conocidos como minisatélites, como los VNTRs o STRs (Variable Number of Tandem Repeat y Short Tandem por sus acrónimos en inglés) sobre un cromosoma.

Actualmente las pruebas de identidad para determinar parentesco o para identificación en otros casos forenses, se basan en la detección de las diferencias genéticas entre individuos. El análisis de Loci es un procedimiento seguro y confiable para los fines de identificación humana, pruebas de parentesco y mapeo genético. La comparación de dos muestras de ADN permite identificar a una persona, algo parecido a la comparación de las huellas dactilares. El ADN normalmente existe como una doble hélice formada por dos cadenas que adoptan un arreglo helicoidal que fue descrita hace 56 años por Watson J. and Crick F. en 1953 (Passarge.E.2007. p.9).

Un genoma es “el complemento genético haploide de un organismo vivo” y el humano contiene 3,2 millones de pares de bases (bp) de información, organizados en 23 cromosomas. Los humanos poseemos dos sets de cromosomas, uno heredado de cada progenitor para un total de 46. Los cromosomas como estamos acostumbrados a verlos en una foto del cariotipo solo ocurren así en la metafase, estado del ciclo celular cuando la célula se prepara para la división, el ADN está empaquetado con la ayuda de unas proteínas (histonas). Cuando la célula no está en división, el genoma está menos condensado y se ve más difuso en el núcleo.

El genoma humano puede dividirse en dos grandes categorías de acuerdo a la estructura y la función de las secuencias. Secuencias codificantes-reguladoras y Secuencias extragénicas estas últimas son secuencias repetidas intercaladas (separadas por segmentos de secuencia única), dispersas por el genoma y el restante 9% consiste de secuencias repetidas en tándem compuesto por Satélites, Minisatélites y Microsatélites. Las secuencias repetidas en tándem forman parte del ADN conocido como Satélite. Recibe este nombre porque las repeticiones contiguas de secuencias discretas de ADN provocan que las frecuencias de los nucleótidos (A, T, G y C) en estas zonas sean diferentes a las del resto de la masa de ADN no repetido.

La determinación del sexo es uno de los primeros pasos para la identificación personal en medicina forense. En ocasiones se hace imposible la diferenciación cuando han sido destruidas las características morfológicas externas del cuerpo, o cuando las características anatómicas diferenciales del esqueleto (del cráneo o de

la pelvis) aún no se han desarrollado. Igualmente puede suceder que la degradación de los tejidos no permita la identificación de los cromosomas X e Y por estudio citológico, incluso puede ocurrir que solo se disponga de la pulpa de los dientes como única fuente de tejido sobreviviente a la degradación por una larga exposición al medio ambiente.

En el campo de la genética forense, grandes consorcios se han dedicado a desarrollar tecnología de punta donde se determinan entre otros aspectos investigativos, la determinación del sexo de las muestras estudiadas, basándose en el análisis del gen de la amelogénina. Pero el fundamento que sustenta esta técnica no soporta las pruebas demostradas existentes en las posibles fallas que se producen en estas aplicaciones, lo que lleva a producir resultados falsos con errores que traen grandes consecuencias desde el punto de vista de la aplicación de la justicia en Venezuela, así como arrojar datos desorientadores en la Investigación Criminal.

Para subsanar estas contingencias se han desarrollado metodologías alternativas para la Investigación del sexo por técnicas de genética molecular. Como es la determinación del sexo por PCR en estudios forenses, determinando la Secuencia Alfa, para así lograr la designación del sexo. Esta técnica se puede realizar a partir de una muestra de tejido humano (sangre, biopsias, etc.), lo cual es materia de interés de muchos laboratorios (de investigación, forenses, clínicos, etc.). Esta técnica se basa en la detección de secuencias pericentroméricas, secuencias alfa, específicas de los cromosomas X e Y.

El ADN satélite alfa, es una familia, primate específica, de secuencias repetidas en tándem presentes en las regiones centroméricas de todos los cromosomas humanos. Las secuencias alfa son específicas en la mayoría de los cromosomas, con la excepción de los cromosomas 1/5/19, 13/21 y 14/22 que comparten la misma secuencia repetida, cada uno dentro de su grupo, por ello no pueden ser diferenciados utilizando sus secuencias alfa. La unidad básica de repetición en el cromosoma Y (secuencia alfoide DYZ3) es un monómero de 170 pb de longitud con alrededor de 100 repeticiones y de 130 pb de longitud para el cromosoma X (secuencia alfoide DXZ1) con alrededor de 5000 repeticiones.

En este trabajo se estandarizó los protocolos de PCR que permiten utilizar las pruebas DYZ3 y DXZ1 para la identificación del sexo a partir de una muestra biológica de origen humano.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, la presente investigación tiene como objetivo desarrollar una metodología de la genética aplicable en el área forense, que evitaría estas fallas, la cual puede ser desarrollada en los distintos laboratorios de Investigación Genéticas de los Cuerpos de Investigaciones Penales, especialmente en el Servicio Nacional de Medicina y Ciencias Forenses (SENAMECF) a nivel Nacional, como los del Ministerio Público y la Guardia Nacional Bolivariana de Venezuela.

El estudio se desarrolló bajo la modalidad de proyecto factible apoyada en una investigación de tipo Experimental con niveles explicativos y proyectivo, con una revisión bibliográfica especializada como fuente documental.