

# Perspectiva general de la genética y la genómica forense en México

José Alonso Aguilar Velázquez <sup>1\*</sup>

## Adscripción:

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Ciencias Morfológico-Forenses y Medicina Molecular, Departamento de Morfología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.

\* josealonso.aguilarvelazquez@academicos.udg.mx

## Datos del artículo

Cita: Aguilar-Velázquez, JA . 2023. Perspectiva general de la genética y la genómica forense en México. Artículo de difusión/ divulgación. Revista Digital de Ciencia Forense. 2(3): 67-76 pp.

Editor: Alexa Villavicencio Queijeiro

Recibido: 01 junio 2023.

Aceptado: 18 septiembre 2023.

Publicado: 28 octubre 2023.

## Resumen

La genética forense permite implementar el conocimiento y las técnicas de la genética para la resolución de casos de orden legal. Aunque esta área es de gran ayuda para la labor de identificación humana, existen casos donde las técnicas convencionales basadas en PCR-EC no son suficientes para identificar personas o restos biológicos a través del DNA. Por lo tanto, en esas situaciones complejas se hace necesaria la implementación de técnicas más novedosas de identificación, como las basadas en genómica forense mediante el análisis de marcadores moleculares a lo largo de todo el genoma. Esta tarea es importante en países como México, donde desde hace varios años existe una crisis forense con un gran número de personas desaparecidas y cadáveres sin identificar. Sin embargo, existe un número muy reducido de trabajos donde se ha validado la utilización y rendimiento de estas tecnologías en poblaciones mexicanas, por lo que es de suma importancia que se realicen más estudios de genómica forense para facilitar la resolución de casos complejos. En este artículo se aborda de manera general la actualidad de la genética y la genómica forense, considerando la perspectiva de México.

**Palabras clave:** genética forense, genómica forense, identificación humana, México.

## Abstract

Forensic genetics allows the implementation of genetic expertise and techniques for the resolution of legal casework. Although this area is helpful for human identification, there are situations where conventional techniques are not sufficiently informative to identify human remains through DNA. Therefore, in these complex situations, it is necessary to implement more innovative identification techniques, such as those based on forensic genomics through the analysis of genome-wide molecular markers. This task is important in countries such as Mexico, where there has been a forensic crisis for several years with a large number of missing persons and unidentified bodies. However, there is a very small number of works where these tools have been reported in Mexican populations, so it is necessary to carry out more genomic studies to allow the resolution of complex human identification casework. This article presents a general overview of the current state of forensic genetics and genomics, considering the Mexican perspective.

**Key words:** forensic genetics, forensic genomics, human identification, Mexico

## Antecedentes

### *Generalidades de la genética forense*

La genética forense es un área de estudio y aplicación que incluye un conjunto de conocimientos de la genética y la biología molecular, que son necesarios para la resolución de casos de orden jurídico. Entre los tipos de pericias más solicitados a los laboratorios de genética forense por los tribunales se encuentran la prueba biológica de paternidad, identificación biológica de restos cadavéricos e identificación de muestras biológicas derivadas de casos criminales (saliva, sangre, cabellos, semen, entre otros).

La genética forense comenzó con el descubrimiento del grupo sanguíneo ABO, la caracterización hereditaria en el año 1910 (1) y su implementación en casos de paternidad e identificación humana a partir del año 1912. Posteriormente se emplearon otros tipos de moléculas con fines forenses, como el antígeno leucocitario humano (HLA) y proteínas séricas, que ofrecían mayor capacidad discriminatoria con respecto al grupo ABO (2). Otro hallazgo importante fue la identificación de diferentes secuencias polimórficas de DNA que pueden ser rastreadas de padres a hijos a través de generaciones, mismas que fueron llamadas marcadores moleculares o genéticos. Los primeros marcadores moleculares utilizados en el área de la genética forense fueron los VNTRs (siglas en inglés de “número variable de repeticiones en tándem”). Posteriormente se comenzaron a emplear otros marcadores como los microsatélites, también llamados STRs (siglas en inglés de “repeticiones cortas en tándem”), los SNPs (siglas en inglés de “polimorfismos de un solo nucleótido”) e INDELs (siglas en inglés de “inserción/delección”), que gracias a su menor tamaño los hace más fáciles de detectar en muestras con poca cantidad de DNA.

Con regularidad el trabajo en los laboratorios de genética forense comienza con la obtención de una muestra biológica ya sea para establecer una paternidad, identificar restos biológicos o identificar a un implicado en un caso criminal. Las muestras que se analizan con mayor frecuencia suelen ser manchas de sangre, semen, saliva u otros objetos (prendas de vestir, colillas de cigarro, vasos y condones usados, entre otros)

obtenidos como indicios en un lugar de investigación forense. Por otra parte, también se pueden obtener muestras sanguíneas de referencia de un imputado o de un supuesto padre implicado en un caso de paternidad.

Cuando se tiene la muestra biológica, la cual debe ser almacenada según las condiciones necesarias, se procede a extraer el DNA de la muestra, tarea que permite separar y aislar el material genético de los demás componentes celulares (RNA, carbohidratos, lípidos, enzimas y otras proteínas) para facilitar los análisis. Después se cuantifica la muestra para conocer la cantidad de DNA, así como su pureza (proporción de DNA, proteínas y sales). Una vez que se sabe que existe una cantidad suficiente de DNA, se procede a realizar una amplificación por PCR (siglas en inglés de “reacción en cadena de la polimerasa”), con lo que se obtienen millones de copias de las regiones genéticas de interés, que en la mayoría de los casos suelen ser STRs. Actualmente están disponibles en el mercado una gran diversidad de kits comerciales que incluyen todos los reactivos para analizar por PCR entre 15 y más de 27 STRs (Powerplex® 16, Identifiler™, Powerplex® 21, Powerplex® Fusion, GlobalFiler™, entre otros). Posteriormente, se analizan mediante electroforesis capilar (EC) los fragmentos de DNA que se amplificaron y mediante un software se determinan los perfiles genéticos que se analizaron. Los resultados de la EC se reflejan en un electroferograma, que muestra los alelos (en forma de picos) para cada marcador e individuo analizado. El último paso corresponde al análisis estadístico de los hallazgos genéticos, el cual es diferente según se busque resolver una prueba de parentesco biológico o un caso criminal.

Para el caso de las pruebas de paternidad, se suelen hacer cálculos como el índice de paternidad (IP) y la probabilidad de paternidad (W), mientras que para los casos criminales se calcula la probabilidad de coincidencia al azar (PCA) y una razón de verosimilitud (LR) (Figura 1). A partir de los resultados se redacta el informe pericial que se entrega a las autoridades correspondientes para evaluar el caso.

Para que los analistas forenses puedan hacer los cálculos estadísticos de las pruebas de paternidad y de identificación humana, es necesario que existan disponibles en la literatura las frecuencias alélicas y ciertos parámetros estadísticos de interés forense

(índice de paternidad, probabilidad de discriminación, probabilidad de exclusión, entre otros) para la población de interés. Por ejemplo, en un caso criminal, una vez que se obtuvieron los perfiles genéticos tanto de la muestra que se encontró en la escena como de la muestra de una persona sospechosa, es necesario conocer cuál es la probabilidad de que esos perfiles genéticos coincidan por azar y por lo tanto el sospechoso o no sea quien cometió el crimen. En esos casos se calcula la PCA, que depende directamente de las frecuencias alélicas reportadas para esa población. Por lo tanto, es de suma importancia que se realicen estudios en los que se reporten estos parámetros en la mayor cantidad posible de poblaciones y empleando los diferentes kits comerciales que existen. En el caso de México, durante los últimos 25 años se han publicado una gran cantidad de trabajos donde se reportaron las frecuencias alélicas

y los parámetros estadísticos de interés forense de muchas poblaciones usando diferentes marcadores y kits comerciales basados en EC, sin embargo, no todas las poblaciones han sido estudiadas (Tabla 1).

### Marcadores moleculares usados en genética forense

Los STRs se convirtieron en los marcadores de elección en pruebas forenses desde hace más de 20 años, debido a su abundancia en el genoma, gran polimorfismo, baja tasa de mutación, herencia mendeliana y facilidad de análisis mediante PCR y electroforesis. Estos marcadores son segmentos de DNA que contienen repeticiones cortas de dos a siete pares de bases (pb) seguidas una tras otra o en tándem (por ejemplo, la secuencia TATA-TATA-TATA), y se encuentran localizados a lo largo del genoma,



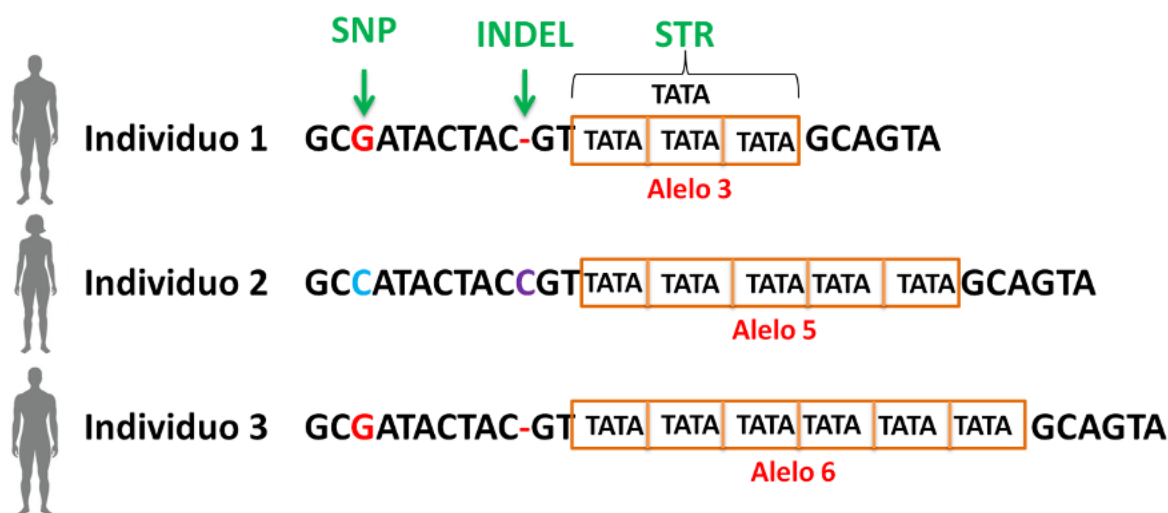
**Figura 1.** Flujo de trabajo general de los laboratorios de genética forense. Los genetistas forenses realizan los análisis de la siguiente manera: 1) comienzan con una muestra biológica (semen, sangre, huesos, saliva, etc.); 2) extraen el DNA eliminando otros componentes celulares para que no interfieran en los análisis posteriores; 3) cuantifican el DNA, para conocer si la cantidad y calidad es suficiente para continuar con la amplificación; 4) amplificación del DNA por PCR, con la finalidad de obtener millones de copias de las moléculas de interés; 5) detección de los alelos y genotipos por electroforesis capilar, lo que permitirá identificar el perfil genético de la muestra de estudio; y 6) el análisis estadístico, que tiene como finalidad determinar el valor cuantitativo de los hallazgos genéticos: en casos criminales se suele calcular la probabilidad de coincidencia al azar (PCA) y la relación de verosimilitud (LR, por likelihood ratio) para determinar qué tan frecuente es el perfil y cuál es la probabilidad de que el perfil genético corresponda al del sospechoso o al de otro individuo en la población, mientras que en pruebas de paternidad se suele calcular el índice de paternidad (IP) y la probabilidad de paternidad (W), que permiten conocer la probabilidad de que el supuesto padre sea el padre biológico del hijo en disputa.

**Tabla 1.** Poblaciones mexicanas para las que se han reportado los parámetros estadísticos de interés forense mediante electroforesis. Se muestra el conjunto de marcadores o kit comercial que se utilizó para analizar cada población.

| Población                                      | Sistema genético                                   | Referencia                                                                                             |
|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Jalisco (3 grupos étnicos)                     | 2 VNTRs, 4 STRs                                    | Rangel-Villalobos et al. Hum Biol. 2000;72(6):983-95.                                                  |
| Chihuahua                                      | Identifiler (15 STRs)                              | Martínez-González et al. J Forensic Sci. 2005, 50(1):236-8.                                            |
| Ciudad de México                               | Profiler (9 STRs)                                  | Luna-Vazquez et al. Forensic Sci Int. 2003;136(1-3):96-8. doi: 10.1016/s0379-0738(03)00254-8.          |
| Nuevo León                                     | 13 STRs (CODIS)                                    | Cerda-Flores et al. Am J Hum Biol. 2002;14(4):429-39. doi: 10.1002/ajhb.10058.                         |
| Centro                                         | Identifiler (15 STRs)                              | Hernández-Gutiérrez et al. Forensic Sci Int. 2005;151(1):97-100. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.09.080. |
| Chiapas (Choles)                               | Identifiler (15 STRs)                              | Sánchez et al. J Forensic Sci. 2005;50(6):1499-501.                                                    |
| Veracruz                                       | Profiler (9 STRs)                                  | Licea-Cadena et al. Leg Med (Tokyo). 2006;8(4):251-2. doi: 10.1016/j.legalmed.2006.04.003.             |
| Hidalgo                                        | Identifiler (15 STRs)                              | Gorostiza et al. Forensic Sci Int. 2007;166(2-3):230-2. doi: 10.1016/j.forsciint.2005.12.007.          |
| Ciudad de México                               | Identifiler (15 STRs)                              | Juárez-Cedillo et al. 2008;2(3):e37-9. doi: 10.1016/j.fsigen.2007.08.017.                              |
| Yucatán (Mayas)                                | Identifiler (15 STRs)                              | Ibarra-Rivera et al. Am J Phys Anthropol. 2008;135(3):329-47. doi: 10.1002/ajpa.20746                  |
| Jalisco, Puebla y Yucatán                      | Identifiler (15 STRs)                              | Rubi-Castellanos et al. Forensic Sci Int Genet. 2009;3(3):e71-6. doi: 10.1016/j.fsigen.2008.07.006.    |
| Oaxaca (grupos étnicos)                        | Identifiler                                        | Quinto-Cortés et al. Hum Biol. 2010;82(4):409-32. doi: 10.3378/027.082.0405.                           |
| Guanajuato                                     | PowerPlex 16 (15 STRs)                             | Rangel-Villalobos et al. Forensic Sci Int Genet. 2010;4(4):271-2. doi: 10.1016/j.fsigen.2009.09.001.   |
| Nayarit                                        | Identifiler                                        | Alvarez-Cubero et al. Leg Med (Tokyo). 2011;13(6):323-7. doi: 10.1016/j.legalmed.2011.07.003.          |
| Ciudad de México                               | PowerPlex Fusion (23 STRs + 1 Y-STR)               | Ramírez-Flores et al. Forensic Sci Int Genet. 2014;10:e4-e6. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.02.001.        |
| Occidente                                      | Powerplex 21 (20 STRs)                             | Martínez-Sevilla et al. 2016. Rev Esp Med Leg. 2016;42 (1), 10-16.                                     |
| Norte y occidente (8 grupos étnicos)           | Identifiler (15 STRs)                              | Rangel-Villalobos et al. Forensic Sci Int Genet. 2013;7(3):e62-5. doi: 10.1016/j.fsigen.2013.02.003.   |
| Sur (9 grupos étnicos)                         | Identifiler (15 STRs)                              | Rangel-Villalobos et al. Int J Legal Med. 2014;128(3):467-8. doi: 10.1007/s00414-013-0956-y.           |
| Nuevo León                                     | Powerplex Fusion y Globalfiler (23 STRs + 1 Y-STR) | Ramos-González et al. Forensic Sci Int Genet. 2016;21:e15-7. doi: 10.1016/j.fsigen.2015.12.004.        |
| Occidente                                      | Powerplex Fusion (23 STRs + 1 Y-STR)               | Aguilar-Velázquez et al. Int J Legal Med. 2016;130(6):1489-1491. doi: 10.1007/s00414-016-1361-0.       |
| Nuevo León                                     | Powerplex Y-23 (23 Y-STRs)                         | Ramos-González et al. Forensic Sci Int Genet. 2017;29:e21-e22. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.04.016.      |
| Noroeste, noreste, occidente, centro y sureste | Powerplex 21 (20 STRs)                             | Aguilar-Velázquez et al. Int J Legal Med. 2018;132(5):1293-1296. doi: 10.1007/s00414-018-1810-z.       |
| Guerrero                                       | Globalfiler (21 STRs)                              | Aguilar-Velázquez et al. Ann Hum Biol. 2018;45(6-8):524-530. doi: 10.1080/03014460.2019.1568548.       |
| Noroeste                                       | Globalfiler (21 STRs)                              | Martínez-Cortés et al. Int J Legal Med. 2019;133(3):781-783. doi: 10.1007/s00414-018-1950-1.           |
| Ciudad de México                               | Powerplex Y-23 (23 Y-STRs)                         | López-Ramírez et al. Int J Legal Med. 2020;134(1):199-202. doi: 10.1007/s00414-019-02183-1.            |

aproximadamente cada 5,000 a 10,000 pb (3). Un alelo STR es nombrado de acuerdo con el número de veces que se presenta la repetición, de manera que el alelo seis indica que la secuencia está presente seis veces (Figura 2). Cabe destacar que los STRs se pueden clasificar de diferentes maneras, según los siguientes criterios: 1) por el número de nucleótidos que conforman los motivos de repetición (di-, tri-, tetra-, penta-, hexa- y hepta-nucleótidos según si tienen dos, tres, cuatro,

cinco, seis o siete nucleótidos, respectivamente). Los STRs más utilizados con fines forenses en la actualidad son los tetra- y penta-nucleótidos, debido a que son los que presentan datos con menor cantidad de errores y parecen ser los más frecuentes en el genoma; 2) por la estructura de los motivos de repetición, entre los que se encuentran los (a) STRs con repeticiones simples, que contienen unidades de longitud y secuencia idénticas, por ejemplo la secuencia AGAT-AGAT-AGAT; (b) los



**Figura 2.** Representación de los diferentes marcadores moleculares usados en genética forense. Los SNPs que son variaciones en un solo nucleótido de DNA; INDELs, que son secuencias de nucleótidos que se encuentran presentes o ausentes y los STRs, que son secuencias cortas de nucleótidos de DNA que se repiten una tras otra.

STRs con repeticiones compuestas, que comprenden dos o más repeticiones simples adyacentes, por ejemplo la secuencia AGAT-AGAT-AGAC-AGAC; y (c) los STRs con repeticiones complejas, que poseen múltiples bloques de repeticiones de longitud variable, con secuencias intermedias variables (4), por ejemplo la secuencia AGAT-AGAT-AG-AGC-AGAC-AGAT. Los STRs se encuentran tanto en los cromosomas autosómicos (pares 1 al 22) como en el cromosoma X (X-STRs) y en el cromosoma Y de los varones (Y-STRs). Estos últimos son útiles en casos específicos, por ejemplo el uso de Y-STRs en casos de abuso sexual o en casos de paternidad en los que no se cuenta con muestra biológica del supuesto padre, pero sí con la de uno de sus familiares vía paterna.

Por otra parte, los SNPs corresponden a cambios en una sola base del DNA, por ejemplo, un cambio de guanina (G) por una citosina (C) en una región específica de la secuencia. Mientras que los INDELs son sitios donde existe (inserción) o no (deleción) un nucleótido o una secuencia de nucleótidos (Figura 2). Como se mencionó anteriormente, los STRs son los marcadores más utilizados en casos forenses y los SNPs e INDELs son marcadores que normalmente se usan de manera complementaria en casos donde los STRs no son suficientes para esclarecer un parentesco o la identidad del donador de una muestra de DNA. Sin

embargo, a pesar de que tienen un notable menor poder de discriminación que los STRs, los SNPs e INDELs son muy útiles en casos donde la muestra de DNA está muy degradada o en muy baja concentración (como en el caso de fragmentos óseos que han sido expuestos al fuego, o en condiciones de humedad, entre otros) ya que por su menor tamaño necesitan secuencias de menor longitud para poder ser amplificados y detectados.

### Limitantes en genética forense

A pesar de que los STRs son los marcadores más utilizados en genética humana, suelen existir casos donde no son suficientes o concluyentes para resolver una relación de parentesco. Por ejemplo, casos en los que la muestra de DNA está degradada y casos de identificación humana donde se incluye solamente a uno de los padres (casos dúo) o en los que solamente se incluyen familiares de segundo o tercer grado (hermanos, abuelos, nietos, tíos, sobrinos, etc.). Uno de los factores más importantes para la resolución de casos forenses es el número de marcadores analizados, ya que entre menor es el número de STRs empleados en una prueba de identificación humana los resultados serán menos informativos, por lo tanto, habrá una probabilidad más alta de que por azar exista coincidencia con otro perfil genético. Además, debido al contexto en que se encuentran muchas de las muestras

biológicas analizadas en el laboratorio de genética forense (lugares de investigación, fosas clandestinas, restos con avanzado estado de descomposición, etc.) es muy probable que el DNA que se obtiene se encuentre altamente degradado, lo que aumenta la probabilidad de que se pierdan alelos (drop out) o no se puedan amplificar los STRs de mayor tamaño (perfiles incompletos), por lo que es importante que se analice el mayor número posible de marcadores.

Debido a esto, en el año 2020 el FBI aumentó a 20 el número de marcadores STRs que conforman el CODIS (por las siglas en inglés de sistema de índices combinados de DNA), que es la base de datos nacional de Estados Unidos donde se encuentran los perfiles genéticos relacionados a casos forenses. Sin embargo, en México no existe una regulación o un consenso en el número mínimo de marcadores que se deben emplear para la resolución de casos forenses, aunque se reportó previamente que es necesario utilizar kits con al menos 20 STRs para detectar más exclusiones y disminuir el número de resultados no concluyentes con exclusiones aisladas (menos de 3 marcadores), lo que al mismo tiempo ayuda a obtener mejores resultados en las pruebas de paternidad (índices de paternidad) (5). También se han publicado en revistas científicas algunos reportes de situaciones complejas en las que los STRs no han sido concluyentes o suficientes para la resolución de casos forenses en México, por ejemplo, se reportó el hallazgo de nueve casos de coincidencias (aparentes relaciones de parentesco) en una base de datos de 2000 perfiles con 15 STRs donde, de acuerdo a los historiales familiares, no existía una relación biológica, por lo que presumiblemente se trató de coincidencias fortuitas (6). En otro trabajo se reportaron exclusiones en tres marcadores en una prueba de paternidad, lo que generó una probabilidad de paternidad baja, que normalmente se traduciría a una aparente “no paternidad”. No obstante, debido a que todos los marcadores que presentaron exclusión se encontraban en el mismo cromosoma –con la posterior confirmación con INDELs e INNULLs– se determinó una disomía uniparental (DUP) materna, es decir, ambos cromosomas 2 del hijo en disputa fueron heredados por la madre (7). En otro caso complejo, se comprobó la paternidad aún con la presencia de una mutación de 4 pasos (delección de 4 motivos de

repetición) en el hijo, mediante la utilización de dos sistemas genéticos diferentes (23 STRs) y evaluando la hipótesis del hermano del supuesto padre (8).

Es importante mencionar que, aunque existen casos complejos como los antes mencionados, estos son muy poco frecuentes. Sin embargo, cuando este tipo de casos se presentan en el laboratorio suelen ser difíciles de solucionar mediante las herramientas tradicionales y regularmente los analistas forenses deberán emplear diferentes sistemas genéticos (STRs, SNPs, INDELs, INNULLs, etc.) y aplicar fórmulas estadísticas especiales según sea el caso, por lo que es necesaria una inversión muy grande de tiempo, recursos económicos y trabajo. Estas limitantes y casos complejos se podrían solucionar o evitar en el laboratorio mediante la utilización de sistemas genómicos a través de secuenciación de nueva generación, debido a que permiten analizar de manera simultánea una gran cantidad de marcadores (STRs autosómicos, X-STRs, Y-STRs y SNPs), e incluso permiten inferir fenotipos y la ancestría biogeográfica en una misma prueba.

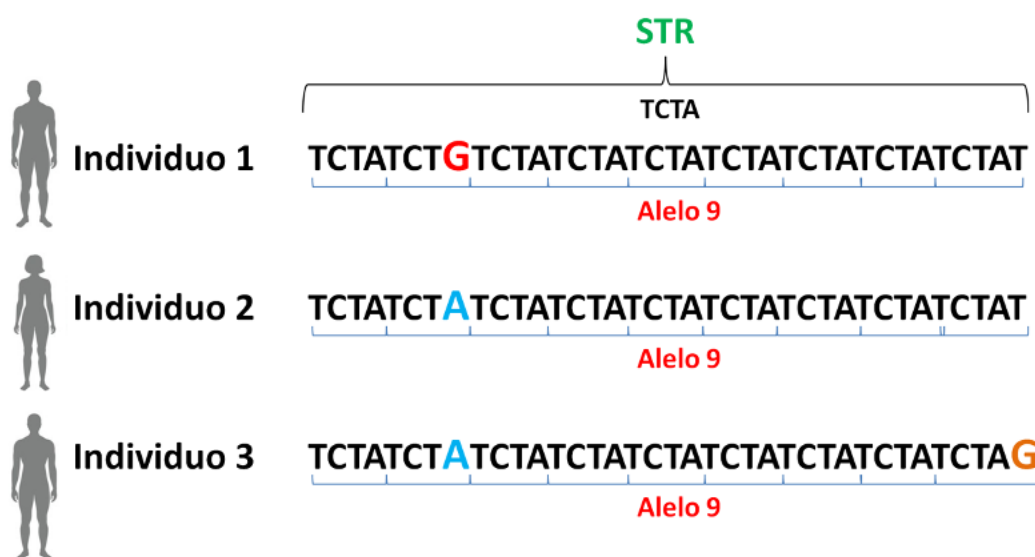
### *Genómica forense*

La secuenciación tradicional de DNA basada en el método de Sanger es comúnmente realizada en sistemas de electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés) acoplados a detección multifluorescente (9). Fue hasta el año 2005 que aparecieron sistemas que realizaban secuenciación bajo los principios del método de Sanger pero de forma paralela y masiva, aumentando el rendimiento de datos y reduciendo en gran medida su costo y tiempo de análisis. Estos son los llamados sistemas de secuenciación de siguiente generación (NGS, por sus siglas en inglés) o secuenciación masiva paralela (MPS, por sus siglas en inglés). En la actualidad existe una gran diversidad de métodos de secuenciación de siguiente generación, como es el caso de la secuenciación por síntesis, pirosecuenciación, secuenciación por ligación, secuenciación por nanoporos y secuenciación por hibridación, entre otros.

Las tecnologías que analizan de manera simultánea una gran cantidad de marcadores, como la MPS y los microarreglos, dieron origen a lo que actualmente se conoce como genómica forense, y

la secuencia interna de los STRs (alelos basados en la secuencia). Esto es muy importante, ya que aunque dos individuos tengan el mismo alelo en determinado marcador (por ejemplo, que ambas personas posean un alelo 7 en el marcador TPOX), no precisamente tendrán la misma secuencia de DNA que conforma ese alelo, por lo que podrían ser diferenciados a través de esas variaciones. Una manera sencilla de diferenciar los diferentes alelos con la misma longitud pero con diferente secuencia es identificando los alelos con una letra después del número de repeticiones, por ejemplo los alelos 7a y 7b. Para entender mejor esta diferencia, en la figura 3 se observan las secuencias de nucleótidos del marcador STR D8S1178 en tres individuos que poseen un alelo con la misma longitud (alelo 9) en uno de sus cromosomas homólogos. Aunque los tres individuos poseen alelos conformados por nueve repeticiones en el mismo STR, si se toma en cuenta la secuencia interna de la repetición (TCTA) es posible observar que los tres alelos tienen la misma longitud pero existe una diferencia en la secuencia en al menos un nucleótido, por lo tanto, se pueden diferenciar los tres alelos 9 por su secuencia de nucleótidos (alelos 9a, 9b y 9c). Esta diferencia en la secuencia interna de los STRs aumenta significativamente su poder de discriminación y

La CE es la técnica de rutina utilizada en los laboratorios de genética forense y permite determinar qué alelos están presentes en uno o más marcadores moleculares, por ejemplo, una adenina (A) o guanina (G) en un determinado SNP, un alelo + o - en un INDEL, o un alelo específico en un STR (por ejemplo, alelo 7, 8 o 9). Sin embargo, con la información que se obtiene a partir de esta técnica no es posible conocer la secuencia interna de nucleótidos que conforma a los diferentes alelos de los STRs, lo que en ocasiones representa una gran limitante. Por su parte, los sistemas basados en MPS además de identificar el tamaño de los alelos (alelos basados en longitud) también permiten conocer



**Figura 3.** Caracterización de las diferencias en la secuencia interna de nucleótidos que poseen tres individuos con alelo 9 en el marcador D8S1178. Se observa que los alelos de los tres individuos poseen el mismo número de repeticiones por lo que todos poseen un alelo 9, sin embargo, es posible diferenciar a los tres individuos por las variaciones en la secuencia de nucleótidos que conforma cada uno de los alelos.

utilidad en casos forenses y de paternidad, como se ha demostrado en diferentes sistemas genómicos disponibles en el mercado.

Como se mencionó anteriormente, los sistemas de MPS también permiten analizar de manera simultánea (multiplex) una gran cantidad de marcadores, lo que facilita que en una misma reacción de secuenciación se puedan analizar tanto marcadores informativos de identidad como marcadores informativos de ancestría e informativos de fenotipos. Esta característica confiere una gran ventaja en casos complejos donde se busca identificar restos humanos en avanzado estado de descomposición o donde se busca reducir el número de sospechosos de acuerdo con las características fenotípicas y de ancestría que se puedan obtener a partir del ADN de las muestras biológicas implicadas en un caso criminal. Otra ventaja importante de la MPS es que genera información adicional a los marcadores que se secuencian, como es el caso de las secuencias de nucleótidos que se encuentran en las regiones adyacentes al marcador molecular (regiones flanqueantes) y los sitios de unión de los cebadores o primers, en los que se han identificado SNPs que generan microhaplotipos y mejoran de manera importante los resultados (10).

Por otro lado, los secuenciadores de DNA basados en MPS han permitido que se generen grandes avances tecnológicos en el área forense, ya que se han desarrollado técnicas para inferir la edad de un individuo a través de los patrones de metilación en el DNA, por mutaciones en el DNA mitocondrial (mtDNA) y por RNAs (mRNAs) (11, 12). También por medio de chips de metilación de genoma completo se desarrolló un sistema que permite inferir con alta eficiencia la edad, sexo, estatura, índice de masa corporal, tabaquismo, relación cadera-cintura y consumo de fármacos hipolipemiantes a partir de muestras de DNA. Recientemente se lograron identificar “sexomas” para la resolución de casos de abuso sexual, donde el término hace referencia a la huella particular del microbioma que posee cada individuo en el área genital y que puede ser usado para identificar si una persona estuvo implicada en una violación sexual (13).

#### *Kits comerciales de genómica forense*

Actualmente hay disponibles en el mercado diferentes kits de amplificación basados en las tecnologías que generan datos masivos, como el sistema

Precision ID NGS System de Applied Biosystems™, que incluye paneles de STRs y SNPs para ascendencia e identidad, así como para la región control o genoma completo del ADN mitocondrial. También están disponibles en el mercado los sistemas ForenSeq™ de Verogen, entre los que se incluyen el ForenSeq™ Kintelligence kit que incluye una gran cantidad de SNPs para estudios de parentesco, el ForenSeq™ MainstAY kit que incluye tanto marcadores autosómicos como de cromosoma Y, los kits ForenSeq™ mtDNA Whole Genome kit y ForenSeq™ Control Region kit que permiten analizar la secuencia del ADN mitocondrial, y el ForenSeq™ DNA Signature Prep. Este último destaca porque posee dos sets diferentes de marcadores, el Primer Mix A que comprende marcadores informativos de identidad (STRs, X-STRs, Y-STRs y SNPs), y el Primer Mix B que contiene todos los marcadores del Mix A más 24 SNPs informativos de fenotipos (color de ojos y cabello) y 56 SNPs informativos de ascendencia biogeográfica. También está disponible en el mercado el kit HIrisPlex-S, que es un sistema que permite analizar 41 SNPs para inferir el color de ojos, de cabello y de piel a partir de muestras de DNA y está disponible tanto para tecnologías basadas en MPS como en CE, aunque para este se requiere realizar múltiples reacciones de PCR. Por último, se han reportado muchos sistemas en artículos científicos que proponen conjuntos de marcadores para inferir una gran cantidad de fenotipos (color de piel, cabello, ojos, estatura, pecas, hoyuelos, edad, hábitos como fumar y consumo de fármacos, entre otros), aunque aún no están disponibles comercialmente.

#### *Genómica forense en México*

Actualmente en México existe una profunda crisis forense en materia de identificación humana, que es evidenciada por las 95,121 personas desaparecidas de las que se tenía registro hasta el año 2021, así como por más de 52,000 cadáveres que no habían sido identificados hasta ese momento (14). Las ventajas que ofrece la tecnología de MPS podrían ayudar a identificar muchos de los elementos óseos humanos que no han podido ser identificados ya sea porque las muestras de DNA están muy degradadas o por la falta de muestras de referencia de familiares de primer grado. Actualmente las tecnologías de genómica

forense tienen un precio elevado y aunque ya se utilizan regularmente en algunos países de Europa y Asia, su implementación en México –al igual que en otros países latinoamericanos– ha avanzado a paso lento. Hasta el conocimiento del autor de este texto, existe un número muy limitado de equipos de MPS de uso forense en los estados de la República Mexicana, como por ejemplo en Nuevo León, Jalisco y Ciudad de México, y la mayoría de estos equipos son usados principalmente con fines de investigación científica. Hasta la fecha en que se escribió este artículo, se habían publicado solamente dos estudios de genómica forense en poblaciones mexicanas, el primero donde se estableció una base de datos genómica de 152 marcadores informativos de identidad (aSTRs, X-STRs, Y-STRs y SNPs) y se determinó que cuando se considera la variación de la secuencia interna de nucleótidos que conforma a los STRs hay un incremento del 46% en el número de alelos, lo que aumenta de manera importante la informatividad de ese sistema genético (15). Otro aspecto importante de ese trabajo es que todos los haplotipos de Y-STRs que se observaron fueron diferentes (capacidad discriminatoria del 100%), lo que mejoró en gran medida en comparación con los estudios previos que se han realizado en esa misma población. Mientras que el segundo estudio consistió en la evaluación de la eficiencia de un panel de 24 SNPs para inferir el color de ojos y cabello, donde se concluyó que en la población mexicana estudiada es posible inferir el color de ojos con un 96.6% de efectividad, mientras que para inferir el color de cabello se observó una efectividad del 68-71%, donde se destaca que el cabello negro se puede inferir con mayor efectividad, en comparación con el café oscuro (16). Una limitante de ese último trabajo es que la mayoría de las muestras analizadas presentaron cabello oscuro (negro y café oscuro) y ojos cafés, lo que impidió evaluar la eficiencia de ese sistema genómico para inferir otros colores como cabello rubio, cabello rojizo y ojos azules. Ambos estudios se realizaron en población de Monterrey empleando el kit ForenSeq™ DNA Signature Prep de la marca Verogen.

A pesar de que estos trabajos significan un gran avance en el área forense, es necesario desarrollar más estudios con sistemas genómicos forenses en otras poblaciones del país que permitan generar bases de datos y parámetros estadísticos de interés forense.

Esto permitirá que los laboratorios forenses en nuestro país puedan hacer uso de los datos disponibles en la literatura científica para resolver casos complejos de identificación humana, donde no se hayan obtenido resultados favorables con el análisis convencional con kits de genética forense basados en EC.

## Conclusiones

Entre las medidas que se pueden implementar para combatir la crisis forense en México se encuentra el uso de técnicas genómicas más novedosas que permiten esclarecer casos complejos donde los sistemas genéticos tradicionales pueden ser insuficientes. Las técnicas de genómica forense presentan muchas ventajas respecto a los sistemas basados en EC, entre las que destaca que permiten analizar de manera simultánea STRs y SNPs, así como el análisis de SNPs informativos de fenotipos y de ancestría, e incluso permiten determinar la secuencia interna de nucleótidos de los STRs y las mutaciones presentes en las regiones adyacentes a los sitios de interés. Debido a lo anterior, es necesario realizar un mayor número de estudios poblacionales donde se evalúen kits de genómica forense con la finalidad de que los laboratorios forenses que forman parte del sistema de procuración de justicia tengan datos de referencia para interpretar correctamente los casos de identificación humana basados en las nuevas tecnologías.

## Bibliografía

1. Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zentralblatt Bakteriologie*. 1900; 27, 357-362.
2. Davey FR, Hubbell CA, Lauenstein KJ, Tinnest C, Henry JB. Analysis of paternity. The use of HLA and red cell antigens. *Transfusion*. 1984;24(4):340-342. doi:10.1046/j.1537-2995.1984.24484275578.x
3. Alonso-Alonso A. Regiones microsatélites del genoma humano (Short Tandem Repeat) Aplicaciones en Genética Forense. En: M.B.M. Jarreta (ed.), *La prueba del DNA en medicina Forense*. 1999; Barcelona España.
4. Urquhart A, Kimpton CP, Downes TJ, Gill P. Variation in short tandem repeat sequences-a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *Int. J. Legal Med*. 1994; 107 (1), pp. 13-20.
5. García-Aceves ME, Romero Rentería O, Díaz-Navarro XX, Rangel-Villalobos H. Paternity tests in Mexico: Results obtained in 3005 cases. *J Forensic Leg Med*. 2018; 55, 1-7. doi: 10.1016/j.jflm.2018.02.003.

6. Quiroz-Mercado JA, Ríos-Rivas RJ, Martínez-Sevilla VM, Chávez-Marín G, Jaimez-Díaz H, Santiago-Hernández JC, Maldonado-Rodríguez R, Rangel-Villalobos H. Analysis of fortuitous matches in a STR genotype database from Mexico and its forensic efficiency parameters. *Egypt J Forensic Sci.* 2017; 7, 19. <https://doi.org/10.1186/s41935-017-0022-x>
7. Guzmán-Alberto JC, Martínez-Cortés G, Rangel-Villalobos H. Inference of maternal uniparental disomy of the entire chromosome 2 from a paternity test. *Int J Legal Med.* 2019; 133(1):71-75. <https://doi.org/10.1007/s00414-018-1811-y>.
8. González-Herrera LJ, García-Aceves ME, Domínguez-Cruz MD, López-González PN, Sosa-Escalante JE, Rangel-Villalobos H. A four-step mutation at D22S1045 in one complex paternity case when the brother of the alleged father hypothesis is evaluated. *Int J Legal Med.* 2020;134(5):1653. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02335-8>.
9. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997; 74, 5463-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.
10. Davenport L, Devesse L, Syndercombe Court D, Ballard D. Forensic identity SNPs: Characterisation of flanking region variation using massively parallel sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 2023; 64, 102847. doi: 10.1016/j.fsigen.2023.102847.
11. Vidaki A, Ballard D, Aliferi A, Miller TH, Barron LP, Syndercombe Court D. DNA methylation-based forensic age prediction using artificial neural networks and next generation sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 2017. 28, 225-236. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.02.009.
12. Zubakov D, Liu F, Kokmeijer I, Choi Y, van Meurs JBJ, van IJcken WFJ, Uitterlinden AG, Hofman A, Broer L, van Duijn CM, Lewin J, Kayser M. Human age estimation from blood using mRNA, DNA methylation, DNA rearrangement, and telomere length. *Forensic Sci Int Genet.* 2016. 24, 33-43. doi: 10.1016/j.fsigen.2016.05.014.
13. Dixon R, Egan S, Hughes S, Chapman B. The Sexome -A proof of concept study into microbial transfer between heterosexual couples after sexual intercourse. *Forensic Science International.* 2023; 348. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2023.111711>.
14. United Nation Human Rights. Conferencia de prensa tras la visita del Comité de la ONU contra la Desaparición Forzada a México. 2021; 1-6.
15. Aguilar-Velázquez JA, Duran-Salazar MA, Córdoba-Mercado MF, Coronado-Avila CE, Salas-Salas O, Martínez-Cortés G, et al. Characterization of 58 STRs and 94 SNPs with the ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit in Mexican-Mestizos from the Monterrey City (Northeast, Mexico). *Mol Biol Rep.* 2022; 49(8):7601-7609. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07575>.
16. Aguilar-Velázquez JA, Llamas-de-Dios BJ, Córdoba-Mercado MF, Coronado-Ávila CE, Salas-Salas O, Lopez-Quintero A, Ramos-González B, Rangel-Villalobos H. Accuracy of Eye and Hair Color Prediction in Mexican Mestizos from Monterrey City Based on ForenSeq™ DNA Signature Prep. *Genes (Basel).* 2023;14(5). <https://doi.org/10.3390/genes14051120>.