



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE CIENCIAS MÉDICAS

UTILIDAD DE ELECTROFORESIS CAPILAR EN LAS REPETICIONES
CORTAS EN TÁNDEM DE LOS TALLOS DEL CABELLO EN UNA
ESCENA DEL CRIMEN

CHACON SANCHEZ CARLOS ALBERTO
MÉDICO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE CIENCIAS MÉDICAS

UTILIDAD DE ELECTROFORESIS CAPILAR EN LAS
REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM DE LOS TALLOS DEL
CABELLO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN

CHACON SANCHEZ CARLOS ALBERTO
MÉDICO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE CIENCIAS MÉDICAS

EXAMEN COMPLEXIVO

UTILIDAD DE ELECTROFORESIS CAPILAR EN LAS REPETICIONES CORTAS EN
TÁNDEM DE LOS TALLOS DEL CABELLO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN

CHACON SANCHEZ CARLOS ALBERTO
MÉDICO

LOPEZ BRAVO MARCELO ISAIAS

MACHALA, 27 DE JUNIO DE 2022

MACHALA
27 de junio de 2022

UTILIDAD DE ELECTROFORESIS CAPILAR EN LAS REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM DE LOS TALLOS DEL CABELLO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN

por CARLOS ALBERTO CHACÓN SÁNCHEZ

Fecha de entrega: 17-jun-2022 09:28a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1857430385

Nombre del archivo: N_T_NDEM_DE_LOS_TALLOS_DEL_CABELLO_EN_UNA_ESCENA_DEL_CRIMEN.docx
(56.09K)

Total de palabras: 4234

Total de caracteres: 22165

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, CHACON SANCHEZ CARLOS ALBERTO, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado UTILIDAD DE ELECTROFORESIS CAPILAR EN LAS REPETICIONES CORTES EN TÁNDEM DE LOS TALLOS DEL CABELLO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

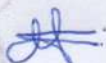
El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 27 de junio de 2022



CHACON SANCHEZ CARLOS ALBERTO
0706298254

DEDICATORIA

Agradecer a Dios por brindarme la fuerza y la lucidez para llegar tan lejos, y dedicar este trabajo a:

A mi madre, por su apoyo incondicional y sus consejos durante toda mi carrera, y jamás dudar de mí.

A mi hermana, por estar pendiente de mí, con su amor maravilloso y su carácter fuerte que me motivaba a continuar.

A mis abuelitos, que siempre fuimos su orgullo y veneración, y siempre nos apoyaron en todo momento.

UTILIDAD DE ELECTROFORESIS CAPILAR EN LAS REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM DE LOS TALLOS DEL CABELLO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN

RESUMEN

Introducción: En la actualidad, dentro de la medicina forense, el método estándar de oro para el análisis de ADN y en particular para las repeticiones cortas en tándem (STR), son la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) y electroforesis capilar (CE), que se utilizan desde hace 20 años, y ha permitido la creación de bases de datos de perfiles genéticos de criminales, sospechosos y procesados en todo el mundo, que se implementado en investigaciones criminales. **Objetivo:** Caracterizar la electroforesis capilar en las repeticiones cortas en tándem de los tallos del cabello, a través de la revisión sistemática de artículos científicos de los últimos cinco años, para la identificación del autor de un crimen. **Materiales y métodos:** Se recopiló artículos científicos de cuartil 1 y 2 de los últimos cinco años, por medio de los términos MeSH, desde la base de datos PubMed, y la metodología tiene un enfoque lógico deductivo, de tipo descriptivo, de diseño no experimental. **Conclusión:** La electroforesis capilar en el análisis de las repeticiones cortas en tándem (STR) de los tallos de cabello, por su uso sencillo, automatización, versatilidad y simpleza de sus archivos, y junto con una base probabilística forense, se convierte en un medio potente y de gran utilidad para la identificación de sospechosos en una escena del crimen, pudiendo así, discriminar y excluir a un perfil genético de un individuo en una población aleatoria de otro, entre uno en mil millones con tan solo analizar 13 loci STR.

PALABRAS CLAVES

Repeticiones microsatélites, electroforesis capilar, escena de crimen, cabello.

USEFULNESS OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS IN SHORT TANDEM REPEATS OF HAIR SHAFTS AT A CRIME SCENE

ABSTRACT

Introduction: Currently, within forensic medicine, the gold standard method for DNA analysis and in particular for short tandem Repeats (STR), are the polymerase chain reaction (PCR) and capillar electrophoresis (CE), which has been used for 20 years, and has allowed the creation of data base of genetic profiles of criminales, suspects and defendants around the world, which is implemented in criminal investigations. **Objective:** Characterize capillar electrophoresis in short tandem repeats of hair shats, through the systematic review of scientific articles of the last five years, for identification of perpetrator of a crime. **Materials and methods:** Scientifi articles of quartile 1 adn 2 the last five years were collected, through has logical deductive approach, of a descriptive type, of a non-experimental design. **Conclusion:** Capillary electrophoresis in the analysis of short tandem repeats (STR) of hair shafts, due to its easy use, automation, versatility and simplicity of its files, and together with a forensic probabilistic base, became a powerful and very useful for the identification of suspects at crimen scene, thus being able to discriminate and exclude a genetic profile of an individual in a random population of another, between one in billon just by analyzing 13 STR loci.

KEYWORDS

Microsatellite repeats, capillar electrophoresis, crime scene, hair.

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
DESARROLLO	6
REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM (STR)	7
Combined DNA Indexing System (CODIS)	8
Secuenciación de las repeticiones cortas en tándem (STR)	9
ELECTROFORESIS CAPILAR	10
BASES ESTADÍSTICAS FORENSES UTILIZADAS EN LAS REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM (STR)	12
LAS REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM DENTRO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN	15
CONCLUSIONES	18
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ejemplos raíces capilares en fase anágena, catágena y telógena.	6
Figura 2 Muestra de STR tetranucleótido (CTAG) de diferentes longitudes en el mismo locus.	7
Figura 3 Ilustración del análisis de TYPER-X19 multiplex.	9
Figura 4 Perfil completo de un cabello.....	11
Figura 5 Un electroferograma de una mezcla equilibrada de dos personas que muestra alelos (rombos rojos) y artefactos (triángulos azules o números azules)	16
Figura 6 Comparación entre la evidencia de la escena del crimen y dos sospechosos.....	17

INTRODUCCIÓN

En el campo de la medicina forense, el análisis del denominado ADN forense, parte de la recolección de artículos o muestras en una escena del crimen para utilizarlos en la identificación de posibles sospechosos, y el tipo de muestra mayoritariamente encontrado son muestras de cabello, dicho análisis es una clave fundamental para el trabajo de casos, basándose en datos científicos en genética para su elaboración y una base probabilística para su reporte ulterior, que se implementó en la década de 1980.(1)(2)

En la actualidad, sirviendo como una muestra probatoria, se utiliza el ADN del cabello, debido a que se caen diariamente un aproximado de 50 a 100 cabellos y por su alta resistencia a la descomposición física, lo cual les permite, permanecer por mucho tiempo en una escena del crimen, pero de igual manera se presta para la colocación accidental en la misma.(3)(4)

El desafío del estudio de los cabellos radica en que el tipo de cabello frecuentemente encontrado en una escena del crimen está en una fase telógena, la cual reduce la cantidad y calidad del ADN. (5)

Estudios actuales de interés forense en el análisis del ADN se enfocan en las repeticiones cortas en tándem o Short Tandem Repeats (STR), polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs) y los polimorfismos en el genoma mitocondrial completo (mtADN).(6)

Dentro del análisis de las repeticiones cortas en tándem (STR) a partir de los cabellos, actualmente el estándar de oro, es la utilización de la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguida de electroforesis capilar (CE) donde se detecta variaciones de longitud específicas individuales en los marcadores de las repeticiones cortas en tándem (STR).(7)

El archivo del análisis realizado por CE es muy simple, el cual posee, el nombre, longitudes de los alelos y las intensidades de fluorescencias de cada locus STR, es decir, existen varios picos en múltiples loci que sirven para la comparación o identificación individual a partir de los genotipados.(8)

La finalidad de este trabajo de investigación se basa en la caracterización de la electroforesis capilar (CE) en las repeticiones cortas en tándem (STR) de los tallos del cabello para la identificación del autor en una escena del crimen, a través, de la revisión sistémica artículos científicos de los últimos cinco años en revistas de alto impacto.

DESARROLLO

El tipo de muestra más común encontrado en indagaciones criminales son el cabello humano, y el procesamiento de dicha muestra inicia con un examen microscópico de sus características físicas, el cual brinda datos relevantes como por ejemplo, si el cabello es una muestra biológica humano o no, de qué región del cuerpo proviene, y posteriormente, se analiza la fase de crecimiento de la raíz y presencia de tejido blando adherido alrededor de la raíz del cabello para determinar la idoneidad para el análisis del adn.(9)

En ese sentido, hay que diferenciar tres fases de crecimiento en los cabellos, una fase telógena o en reposo, que se caracteriza por carecer de material radicular o folicular adherido y también en proceso de apoptosis y queratinización, esto último implica que los queratinocitos pierden sus núcleos para convertirse en corneocitos y podría contener poco ADN nuclear y este tipo de cabello son frecuentemente encontrados, hasta un 95%, en las muestras recolectadas en una escena del crimen, en contraste con cabellos en fase activa o anágeno, por lo tanto, en dependencia de estas características el cabello puede usarse para el análisis del adn nuclear (STR) o adn mitocondrial. (10)(11)(12)(13)



Figura 1 Ejemplos raíces capilares en fase anágena, catágena y telógena.

(Fila superior) Ejemplos en fase anágena, que presentan cierta cantidad de tejido blando que rodea la porción apical de la raíz estirada. (Fila del medio) Ejemplos de raíces pilosas en fase catágena que exhiben características intermedias de raíces pilosas en fase anágena y telógena. (Abajo) Ejemplos de raíces pilosas en fase telógena que exhiben un mínimo de tejido blando alrededor de la raíz. Imágenes tomadas con un aumento de 200x bajo iluminación de campo claro.(9)

Posterior al análisis de idoneidad de los cabellos, el siguiente proceso es la extracción donde se puede aplicar diversos protocolos que incluyen pasos como lavado, lisis/digestión, y purificación, para obtener muestras con ADN cuantificable en forma purificada y realizar una correcta secuenciación del ADN.(14)(15)

REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM (STR)

En el genoma humano, dentro de las regiones del ADN no codificante, existen secuencias de nucleótidos repetidas llamadas repeticiones cortas en tándem (STR) o repeticiones de secuencia simple (SSR) que van desde un tamaño de 2pb a 6pb, con una mediana de 25 nucleótidos.(16)(17)

La elevada tasa de mutación de las repeticiones cortas en tándem (STR) se produce en consecuencia a que, en estas regiones del genoma, durante la replicación del ADN, se producen eventos de deslizamiento y como resultado existen mutaciones frecuentes en cada repetición.(18), y podemos encontrarlos en los cromosomas sexuales, así como en los cromosomas autosómicos, siendo estos últimos de superior importancia para la identificación individual (19) en el sistema judicial debido a que ostentan elevadas bases estadísticas y un mayor poder de discriminación con un método cuantitativo estandarizado.(20)

Las repeticiones cortas en tándem (STR) se subclasifican en dependencia de las unidades repetidas y la estructura repetida, con respecto a la longitud de la unidad de repetición principal, se puede dividir en dinucleótido, trinucleótido, tetranucleótido, pentanucleótido y hexanucleótido. Los STRs más comunes en el genoma humano son los dinucleótido y tetranucleótido, el primero se encuentra en 30%-67%, y de éste existen dos subtipos, el mayormente secuenciado es AC, que es 2,3 veces más común que AT.(17)

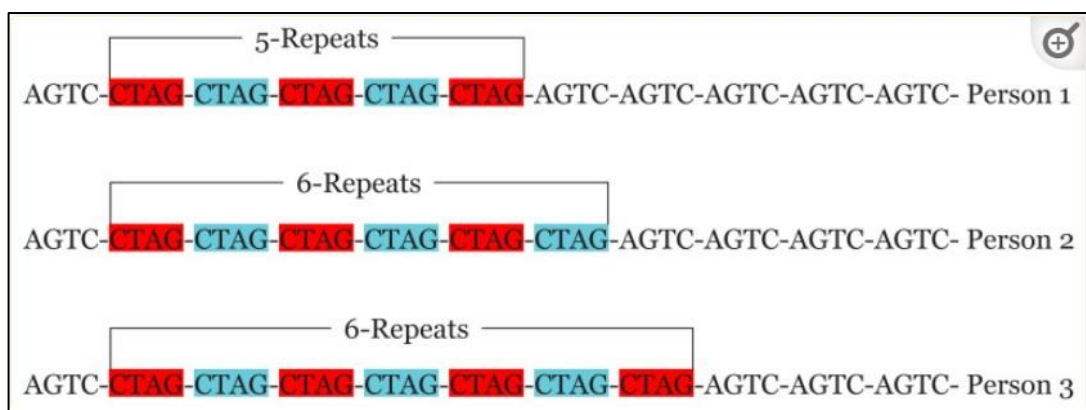


Figura 2 Muestra de STR tetranucleótido (CTAG) de diferentes longitudes en el mismo locus. (21)

Los miles de repeticiones cortas en tándem (STR) existentes en el genoma humano, solo representan un 3%, eso vendría a significar un aproximado de 70.000 loci STR, pero a nivel mundial solo se han seleccionado unos cuantos loci, para la creación de bases de datos de ADN forense de tipo gubernamental, es así que se ha implementado en más 60 países dichas bases de datos lo que genera alrededor de 125 millones de perfiles de delincuentes/detenidos que se utiliza en laboratorios criminalísticos. (22)(23) (17)

Entre las principales bases de datos se encuentra CODIS (Combined DNA Indexing System) de los EE.UU. el cual usa 20 loci A-STR (STR autosómicos) centrales, que no incluyen los cromosomas X e Y, el cual es usado por más de 190 agencias del país; por su parte en China su base de datos nacional de ADN posee 23 loci A-STR centrales y la Unión Europea recomienda a sus países miembros usar 16 loci A-STR del Conjunto Estándar Europea (ESS) (24)(25)

Con respecto, en el Ecuador, dentro del manual de procedimientos para el laboratorio de ADN humano, del Sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses, cuyo ente regulador es la Fiscalía General del Estado, que fue entregado en el 2014, nos menciona que todos los laboratorios criminalísticos debe poseer reactivos para amplificar marcadores autosómicos, con un mínimo de 16 loci, y sexuales (X y Y), que serán actualizados acorde con los estándares internacionales.(26)

Combined DNA Indexing System (CODIS)

La Oficina Federal de Investigaciones (FBI) de los Estados Unidos elabora perfiles genéticos de las repeticiones cortas en tándem (STR) para la creación de una base de datos forense denominada Sistema de Índice de ADN Combinado o CODIS por sus siglas en inglés, el cual utiliza el Sistema Nacional de Índices de ADN (NDIS) y la Base de Datos Nacional de ADN de personas desaparecidas, que sirve para la comparación de muestras recolectadas en un escena del crimen y muestras biológicas derivadas de sospechosos potenciales previamente almacenados.(27)(28)

Los principales loci de las repeticiones cortas en tándem (STR) albergados en el Sistema Índice de ADN Combinado (CODIS) son los siguientes: D19S433, CSF1PO, D16S539, D1S1656, D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D10S1248, D12S391, D13S317, D18S51, D21S11, D22S1045, FGA, TH01, TPOX y vWA.(29)

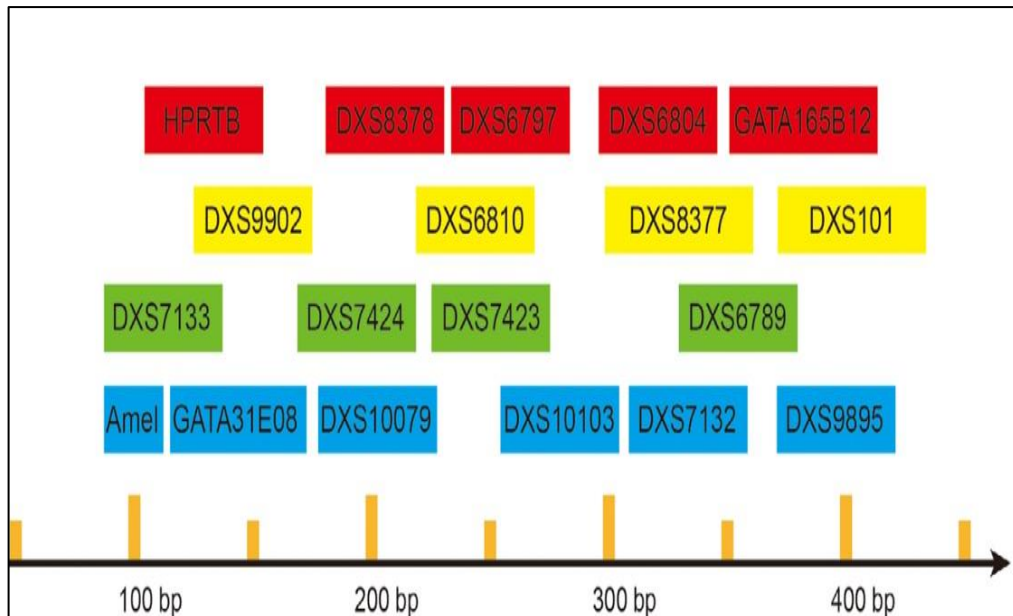


Figura 3 Ilustración del análisis de TYPER-X19 multiplex. Los cuadros representan el color del tinte y el rango de fragmento esperado para cada locus.(30)

El parámetro que la Oficina Federal de Investigaciones (FBI) utiliza para medir el éxito del software Sistema de Índice de ADN Combinado (CODIS) es mediante el parámetro llamado “investigaciones asistidas” donde significa el valor agregado que ha brindado el sistema en un determinado número de investigaciones criminales, y dicho sistema ha ayudado en más de 574.343 investigaciones hasta el corte de corte de Octubre del 2021, y contiene hasta la fecha el Sistema Nacional de Índices de ADN (NDIS) más de 14’836.490 perfiles de infractores, 4’513.955 perfiles de arrestados y 1’144.255 perfiles forenses.(31)

Secuenciación de las repeticiones cortas en tándem (STR)

Una vez que se aplicó cualquier protocolo de extracción a los cabellos humanos, a continuación se secuencia las muestras purificadas, uno de los primeros métodos usados para este fin, fue propuesto por Sanger en 1977 que consistía en la clonación/terminación de cadena, que permite una longitud de lectura de 25 a 1200 pares de bases (pb), con un tiempo de ejecución de 2h, y posterior con el desarrollo de la técnica de PCR surgieron las técnicas de secuenciación de segunda generación entre las importantes se encuentran aquellas basadas en la pirosecuenciación o SBS (secuenciación por síntesis) o em-PCR (PCR en emulsión) con una longitud de lectura de 100 a 1000 pb con un tiempo de ejecución de 24 horas. Otro método son los puentes PCR o terminación inversa, con una

longitud de lectura de 36 a 300 pb y que dura varios días, así como, SBS sensible a iones junto con cambio de pH dando una lectura de 200 a 400pb y culminando la ejecución en 2horas, implementados a partir del 2005 por varias empresas.(32)

Actualmente el método estándar en medicina forense es el PCR para amplificar las repeticiones cortas en tándem (STR) y luego se aplica electroforesis capilar (CE) para separar los amplicones de ADN.(33)

ELECTROFORESIS CAPILAR

Los tres principales componentes de un sistema de electroforesis capilar (CE) son:

1. Capilar de separación,
2. Fuente alimentación de alto voltaje, y
3. Detector, con apoyo eléctrico para la adquisición de datos adecuadamente.

Las señales obtenidas por el detector deben pasar por un software de adquisición de datos, el cual tiene como objetivo transformar la señal medida en valores numéricos digitales que puedan procesarse posteriormente, dando como resultado un gráfico denominado electroferograma.(34)

Se define a la electroforesis capilar (CE) como la interpretación y cuantificación, del tiempo de migración de las moléculas de ADN, tanto en longitudes de fragmentos del ADN como en cantidades de amplicones expresados en Unidades Relativas de Fluorescencia (RFU) para el caso específicos de las repeticiones cortas en tándem (STR), que para una fácil comprensión se visualiza en perfiles de pico y tablas o llamados perfiles de CE, donde los picos son el reflejo de las RFU medidas y las tablas determinan la longitud de los fragmentos indicados en números. Dichos archivos que contiene los perfiles de EC o electroferogramas, son muy simples los cuales contienen los nombres de locus STR, las longitudes de los alelos STR y las intensidades fluorescentes (RFU o alturas máximas). Y en un perfil de electroforesis capilar (CE) existen varios picos en múltiples loci (aproximadamente de 13 a 24), cuando un pico coincide con el genotipado de un contribuyente conocido a la muestra, es conocido como pico alelo o verdadero.(8)(35)

A continuación, un ejemplo de un electroferograma de 21 loci STR de un cabello.

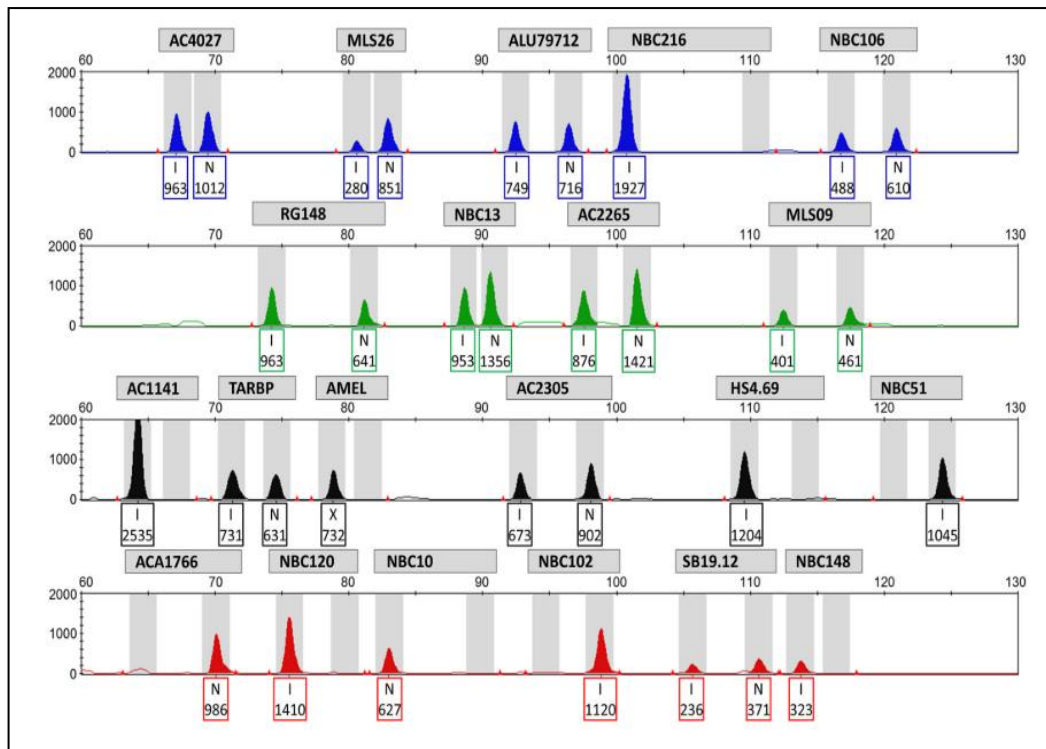


Figura 4 Perfil completo de un cabello.(10)

En un electroferograma, se puede observar para cada locus de STR autosómicos, dos alelos, que refleja el componente diploide del genoma humano, es decir, un alelo proviene de la madre y otro del padre, que significa que una persona es heterocigótica mostrando un patrón de dos bandas o picos, pero si los dos alelos de sus progenitores son idénticos se visualizará un patrón de un solo pico.(36)

Los capilares, de un diámetro pequeño, que posee un sistema de electroforesis capilar (CE) le confieren la característica de poder usar muestras con un volumen muy bajo logrando una mayor sensibilidad, y produciendo mejores formas de pico y mayor resolución pero dichas muchas deben tener en mayor concentración las moléculas a analizar.(37)

Los capilares están tapizados con un polímero bombeable y actualmente el proceso esta automatizado por medio de bombas que llena los capilares inmediatamente después de cada proceso en pocos minutos, y posee tiempos de ejecución rápidos debido a la superficie del capilar que disipa el calor en casos de una electroforesis de alto voltaje. Además de tener la automatización de cargas de las muestras, realiza la detección por medio de fluorescencia, eliminando así el uso de productos radiactivos, pudiendo secuenciar hasta 1000 bases en 40 mins.(38)

La electroforesis capilar (CE) puede sencillamente conectarse a varios tipos de conectores, como por ejemplo el más común es el detector de espectrometría ultravioleta-visible (UV-Vis) con un límite de detección de moléculas entre $10^{-5} - 10^{-7}$ posee ventajas como bajo costo y la matriz de diodos proporciona información sobre la identidad y la pureza del analito, pero como desventaja tiene baja sensibilidad, como segundo detector más usado se encuentra la fluorescencia inducida por láser con un límite de detección de $10^{-10} - 10^{-16}$ es altamente sensible, selectivo y adecuado para dispositivos de microfluidos pero requiere un etiquetado de las muestras y dispersión de luz Rayleigh y Raman.(39)

Existen múltiples kits en los que se ha implementado la tecnología de amplificación basados en la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) compatibles con la electroforesis capilar (CE), y que han sido probados para medir el poder estadístico de los mismos en muestras de tallos de cabellos sin raíces, se pudo producir un perfil genético en el 83% de las muestras (de 38 muestras usadas en el estudio) y en otro estudio utilizando el mismo kit de amplificación con una muestra de 15 individuos, reveló que las probabilidades de coincidencia era de 1 en 581 millones de personas.(10)(11)

BASES ESTADÍSTICAS FORENSES UTILIZADAS EN LAS REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM (STR)

En relación al método de razón de verosimilitud (LR) se puede resaltar su utilidad en investigaciones de delitos, ya que mide la solidez de la evidencia, ya sea a favor o en contra de cada hipótesis en un contexto delimitado, además, su principal ventaja sobre otros métodos radica en la evidencia analizada tanto con el contexto de la hipótesis presentada por la fiscalía como frente a una hipótesis alternativa a la misma. Y se puede formular hipótesis en investigaciones criminales de la siguiente forma: H_p o H_Q : Donde p o Q es la evidencia del perfil de ADN recuperado, se origina del acusado o hipótesis de acusación, y H_d o H_X : donde d o X es la evidencia del perfil de ADN que proviene de alguien que no es el sospechoso o un pariente cercano del sospechoso o hipótesis de defensa. Si el valor es >1 la solidez de la evidencia fortalece la hipótesis principal, pero si esta <1 la evidencia la debilita.(40)(41)(42)

Otros parámetros utilizados en medicina forense, son la probabilidad de coincidencia aleatoria o RMP (por sus siglas en inglés) o probabilidad de coincidencia combinada (CMP), poder de exclusión combinado (CPE) y poder de discriminación combinado (CPD). La probabilidad de coincidencia aleatoria (RMP) no es más que la posibilidad que

LAS REPETICIONES CORTAS EN TÁNDEM DENTRO EN UNA ESCENA DEL CRIMEN

Se ha demostrado que, si se utilizan más loci de repeticiones cortas en tándem (STR) para tipificar, el valor de discriminación es mayor, ya que la probabilidad de que dos individuos de una población aleatoria posean el mismo número de unidades repetidas de los STR analizados es extremadamente raro, y con solo analizar 13 loci STR, esa probabilidad se eleva a una en un billón entre individuos no relacionados.(21)

Una dificultad para los laboratorios forenses es la secuenciación de las repeticiones cortas en tándem (STR) de los tallos de cabellos se debe cuando están en una fase telógena, lo que implica que el proceso de queratinización degrada los orgánulos y los ácidos nucleicos resultando en un ADN nuclear degradado y en poca cantidad, pero se ha realizado estudios donde se compara la secuenciación de ADN mitocondrial y ADN nuclear simultáneamente de unas mismas muestras de cabellos en fase telógena, donde la cantidad fue poca y con una calidad de un nivel elevado de degradación, se demostró que a pesar de estas condiciones se obtuvo una secuenciación del 99.93% al 99.88% de ADN nuclear, y el 0.07% al 0.12% restante eran ADN mitocondrial.(15)

Por lo tanto, para superar esta dificultad, muestras de ADN degradadas y un bajo número de copias o LCN por sus siglas en inglés, se ha propuesto en un estudio implementar un método denominado análisis de la curva de fusión de alta resolución (HRM), el cual se basa en la utilización de curvas de fusión de alta resolución para que se analicen las muestras de acuerdo a la longitud de la secuencia de ADN, el contenido de GC y la complementariedad de las cadenas y por su uniformidad de alta temperatura y precisión de resolución puede distinguir la diferencia de una única base en la cadena a partir del análisis de 200pb. Dicho estudio demostró que el método HRM puede secuenciar exitosamente el ADN de tallos de cabello, con plantillas tan bajas como 100pg de cantidad y tan cortas de 60pb.(53)

Otro aspecto que puede mejorar el desafío de un LCN se centra en qué método se usa para la amplificación, el PCR convencional, requiere una muestra que va desde 100pg a 500pg, es decir unas 80 a 250 células diploides para generar un perfil de ADN óptimo, pero si se usa el PCR directo el cual evade los procesos de extracción, cuantificación y contracción que se debe emplear en la PCR convencional, y solo necesita 17 células,

también se puede minimizar los errores del personal de laboratorio, la contaminación de ADN exógeno, y también se puede reducir el tiempo y el costo total del procesamiento de las muestras.(54)(55)

Un último desafío en el análisis de los perfiles de ADN, es son las mezclas de ADN, que significa que una muestra puede contener contribuciones de ADN de múltiples donantes en diferentes proporciones, que se expresa en electroferograma más de dos picos en un loci específico, y la interpretación es mucho más compleja debido a el número potencial de alelos presentes en el perfil, incorporación de alelos y el desequilibrio heterocigoto. Y para solventar dicho dilema, se ha requerido de métodos cada vez más complejos para la interpretación de las mezclas, uno puede ser la combinación de marcadores genéticos junto con STR, como SNP-STR, DIP-STR y si se utiliza cebadores específicos de alelo tendrían una sensibilidad de 1:1000. Otra vía es la aplicación de métodos de genotipado probabilísticos, estos se clasifican en semicontinuos, los cuales no utilizan información sobre la altura de los picos ni artefactos de modelos como el tartamudeo, y continuos, que si lo hacen.(56)(57)

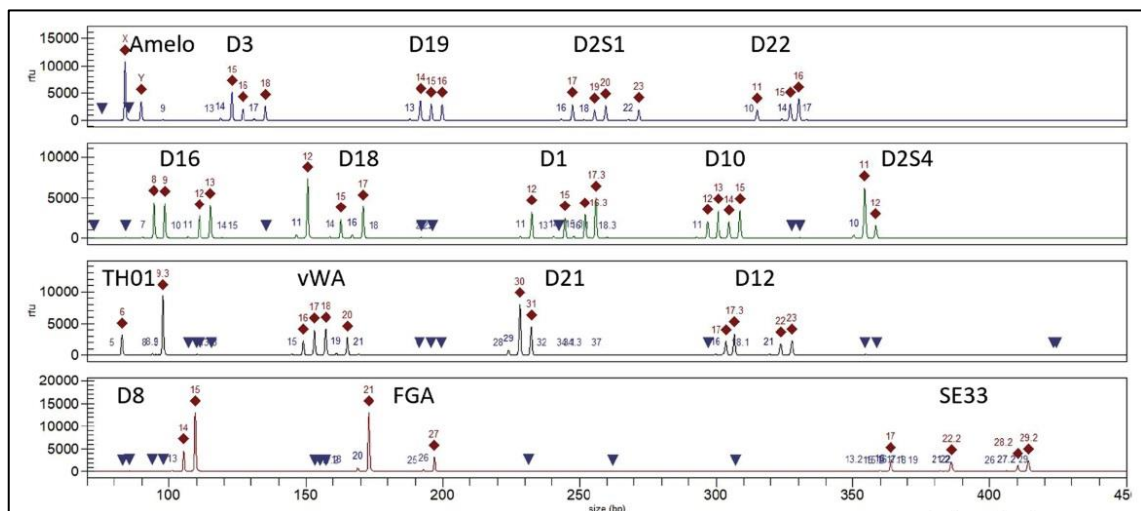


Figura 5 Un electroferograma de una mezcla equilibrada de dos personas que muestra alelos (rombos rojos) y artefactos (triángulos azules o números azules)(1)

El uso de bases de datos basadas en las repeticiones cortas en tándem (STR) para identificación de sospechosos en crímenes tienen un aumento en personas detenidas, por ejemplo, en Malasia se triplicó la aprehensión de personas en solo dos años, con aciertos o coincidencias en un 100%, de un 17 a 69, del 2017 y 2019, respectivamente.(58)

La identificación humana por medio de las repeticiones cortas en tándem (STR) se puede mostrar de manera simplificada en la figura 6, donde se muestra la comparación del perfil de ADN de un sospechoso contra el perfil de ADN secuenciado de una muestra biológica de un escena del crimen, donde se aprecia la coincidencia de los 3 loci STR.(21)

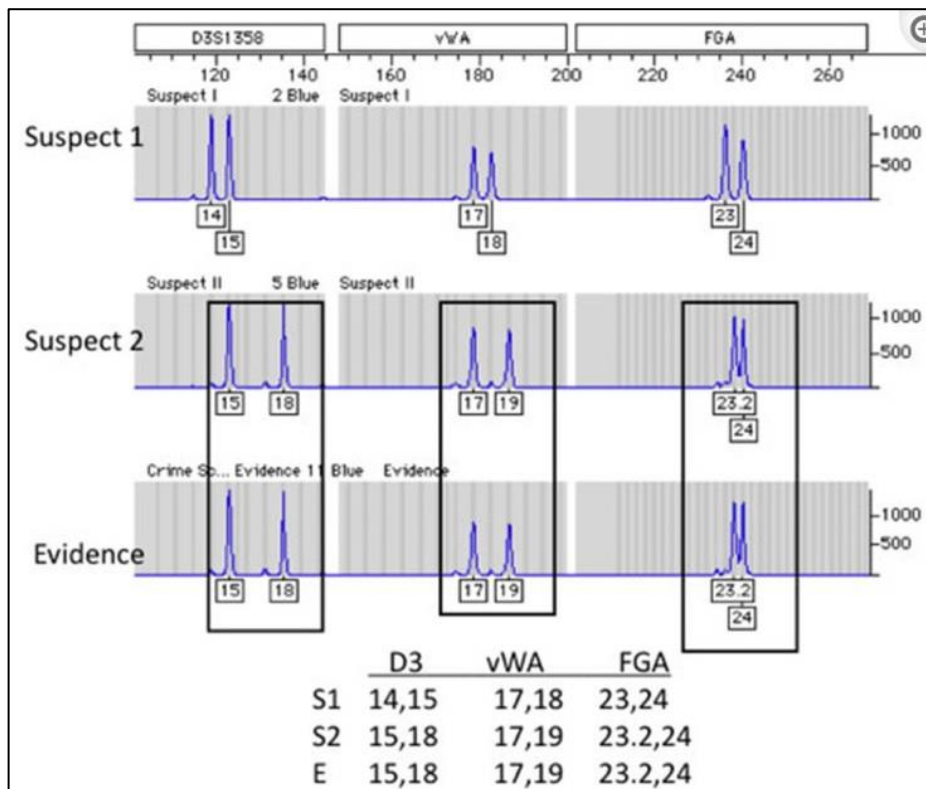


Figura 6 Comparación entre la evidencia de la escena del crimen y dos sospechosos.(21)

CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación se caracterizó la electroforesis capilar en las repeticiones cortas en tándem de los tallos de cabellos para la identificación del autor en una escena del crimen. Lo más importante en la caracterización de la electroforesis capilar fue su versatilidad, sencillez, y simpleza, porque posee procesos automatizados, facilidad de intercambio de los detectores, desde detectores con poca capacidad hasta aquellos con muy elevada capacidad de detección de moléculas, también por la generación de archivos simples utilizados en la comparación de perfiles genéticos.

La electroforesis capilar, ayudó en gran medida, por lo antes mencionado, a elaborar bases de datos con los perfiles genéticos de sospechosos, delincuentes y detenidos en procesos judiciales en muchos países del mundo, el más importante es el sistema CODIS de los Estado Unidos, que ayuda enormemente en las investigaciones criminales, que conjuntamente con bases estadísticas forenses, determinan un elevado peso en la discriminación y exclusión de perfiles genéticos e hipótesis en investigaciones criminales, al combinar los múltiples loci existentes en la actualidad, que van desde 13 loci a 23 loci, tanto así, que si se utiliza simplemente 13 loci para tal análisis, la probabilidad de que un individuo tenga el mismo perfil genético que otro en una población aleatoria, es de uno en mil millones.

Lo más difícil en la generación de los perfiles genéticos mediante la electroforesis capilar, a partir de muestras de tallos de cabellos, se debe a varios motivos entre ellos se encuentran: la fase telógena del cabello, poca cantidad de muestra recolectada en una escena del crimen, mala calidad del ADN, mezclas de ADN.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Puch-Solis R, Pope S. Interpretation of DNA data within the context of UK forensic science - evaluation. Vol. 5, Emerging Topics in Life Sciences. Portland Press Ltd; 2021. p. 405–13.
2. Ohira H, Sakamoto Y, Yamamoto I, Yamada Y. DNA analysis of hairs in a suspected case of child abuse. *Leg Med*. 2018 Nov 1;35:77–9.
3. Catlin LA, Chou RM, Goecker ZC, Mullins LA, Silva D, Spurbeck RR, et al. Demonstration of a mitochondrial DNA-compatible workflow for genetically variant peptide identification from human hair samples. *Forensic Sci Int Genet*. 2019 Nov 1;43.
4. Gutierrez R, LaRue B, Houston R. Novel extraction chemistry and alternative amplification strategies for use with rootless hair shafts. *J Forensic Sci*. 2021;66(5):1929–36.
5. Jones KF, Carlson TL, Eckenrode BA, Donfack J. Assessing protein sequencing in human single hair shafts of decreasing lengths. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2020;44(May 2019):102145. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102145>
6. Liu YY, Harbison SA. A review of bioinformatic methods for forensic DNA analyses. Vol. 33, *Forensic Science International: Genetics*. Elsevier Ireland Ltd; 2018. p. 117–28.
7. Dash HR, Kaitholia K, Kumawat RK, Singh AK. Sequence variations , flanking region mutations , and allele frequency at 31 autosomal STRs in the central Indian population by next generation sequencing (NGS). *Sci Rep* [Internet]. 2021;1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02690-5>
8. de Knijff P. From next generation sequencing to now generation sequencing in forensics. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2019;38:175–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.10.017>
9. Lawas M, Otterstatter LM, Forger L V., Gray JE, Donfack J. A quantitative method for selecting a hair for nuclear DNA analysis. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2020;48(January):102354. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102354>
10. Grisedale KS, Murphy GM, Brown H, Wilson MR, Sinha SK. Successful nuclear DNA profiling of rootless hair shafts: a novel approach. *Int J Legal Med*. 2018;132(1):107–15.
11. Martins C, Miguel P, Carvalho R, Cristina S, Farinha C, Azevedo L, et al. Evaluation of InnoQuant ® HY and InnoTyper ® 21 kits in the DNA analysis of rootless hair samples. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2019;39(December 2017):61–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.12.005>
12. Lee SY, Ha EJ, Woo SK, Lee SM, Lim KH, Eom Y Bin. A rapid nuclear staining test using cationic dyes contributes to efficient STR analysis of telogen hair roots. *Electrophoresis*. 2017;38(13–14):1771–9.

13. Dierig L, Schmidt M, Wiegand P. Looking for the pinpoint: Optimizing identification, recovery and DNA extraction of micro traces in forensic casework. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2019;102191. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102191>
14. Martin B, Kanokwongnuwut P, Taylor D, Kirkbride KP, Armitt D, Linacre A. Successful STR amplification of post-blast IED samples by fluorescent visualisation and direct PCR. *Forensic Sci Int Genet*. 2020 May 1;46.
15. Brandhagen MD, Loreille O, Irwin JA. Fragmented Nuclear DNA Is the Predominant Genetic Material in Human Hair Shafts. 2018;8–12.
16. Dash HR, Rawat N, Vajpayee K, Shrivastava P, Das S. Useful autosomal STR marker sets for forensic and paternity applications in the Central Indian population. *Ann Hum Biol*. 2021;48(1):37–48.
17. Gharesouran J, Hosseinzadeh H, Ghafouri-Fard S, Taheri M, Rezazadeh M. STRs: Ancient Architectures of the Genome beyond the Sequence. Vol. 71, *Journal of Molecular Neuroscience*. Humana Press Inc.; 2021. p. 2441–55.
18. Gymrek M. A genomic view of short tandem repeats. Vol. 44, *Current Opinion in Genetics and Development*. Elsevier Ltd; 2017. p. 9–16.
19. Kowalczyk M, Zawadzka E, Szewczuk D. Molecular markers used in forensic genetics. 2018;
20. Sharma V, van der Plaat DA, Liu Y, Wurmbach E. Analyzing degraded DNA and challenging samples using the ForenSeq™ DNA Signature Prep kit. *Sci Justice*. 2020 May 1;60(3):243–52.
21. Udogadi Nwawuba Stanley, Abdullahi Mohammed Khadija, Adams Tajudeen Bukola, Imose Omusi Precious EAD. Forensic DNA Profiling: Autosomal Short Tandem Repeat as a Prominent Marker in Crime Investigation. *Malaysian J Med Sci*. 2020;27(4):22–35.
22. Moore MK, Frazier K. Humans Are Animals, Too: Critical Commonalities and Differences Between Human and Wildlife Forensic Genetics. Vol. 64, *Journal of Forensic Sciences*. Blackwell Publishing Inc.; 2019. p. 1603–21.
23. Ge J, Budowle B. Forensic investigation approaches of searching relatives in DNA databases. 2020;(August):1–14.
24. Myers S. Searching CODIS with binary conversions of STRmix interpretations. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2021;55(August):102569. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102569>
25. Wickenheiser RA. Expanding DNA database effectiveness. *Forensic Sci Int Synerg* [Internet]. 2022;4(January):100226. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsisyn.2022.100226>
26. Fiscalía General del Estado. Manual de procedimientos para el laboratorio de ADN humano [Internet]. 2014. Available from: https://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos AC/COIP 073 FGE/Area Ciencias Forenses/5_Manual_de_Procedimientos_para_el_laboratorios_de_ADN_Humanos.pdf

27. Gretchen Smith, Debra Mathews, Samuel Sander-Effron, Deborah Requesens, Nahid Turan LS. Microsatellite Markers in Biobanking: A New Multiplexed Assay. *Biopreserv Biobank*. 2021;19(5):438–43.
28. Federal Bureau of Investigation. Combined DNA Index System (CODIS) [Internet]. 2021. Available from: <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis>
29. Li X na, Zheng J long, Jun Y. Population data of 21 autosomal STR loci in the Hausa, Igbo and Yoruba people of Nigeria. *Forensic Sci Int Genet*. 2017;31:e57–8.
30. Zhang Y, Yu Z, Mo X, Zhao X, Li W, Liu H, et al. Development and validation of a new 18 X-STR typing assay for forensic applications. *Electrophoresis*. 2021;42(6):766–73.
31. Federal Bureau of Investigation. CODIS - NDIS Statistics [Internet]. Available from: <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis>
32. Bruijns B, Tiggelaar R, Gardeniers H. Massively parallel sequencing techniques for forensics : A review. 2018;2642–54.
33. Mccord B, Gauthier Q, Cho S, Roig M, Gibson-daw G, Young B, et al. Forensic DNA Analysis. *Anal Chem*. 2018;
34. Kubán, Petr, František Foret GE. Open source capillary electrophoresis. *Electrophoresis*. 2019;40(1):65–78.
35. Karkar S, Alfonse LE, Grgicak CM, Lun DS. Statistical modeling of STR capillary electrophoresis signal. *BMC Bioinformatics*. 2019;20(Suppl 16):1–12.
36. Qinrui Yang, Yiwen Shen, Chengchen Shao, Yidong Liu, Hongmei Xu, Yueqin Zhou, Zhiping Liu, Kuan Sun, Qiqun Tang JX. Genetic analysis of tri-allelic patterns at the CODIS STR loci. *Mol Genet Genomics*. 2020;295(5):1263–8.
37. Santos Inés JSB. Recent developments in the characterization of nucleic acids by liquid chromatography, capillary electrophoresis, ion mobility, and mass spectrometry (2010-2020). *J Sep Sci*. 2021;44(1):340–72.
38. Tyler L Dangerfield, Nathan Z Huang KAJ. High throughput quantification of short nucleic acid samples by capillary electrophoresis with automated data processing. *Anal Biochem*. 2021;15(629).
39. Damaso N, Ashe EC, Meiklejohn KA, Kavlick MF, Robertson JM. Comparison of polymerases used for amplification of mitochondrial DNA from challenging hairs and hairs of various treatments. *Forensic Sci Int Genet* [Internet]. 2021;52(February):102484. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102484>
40. Petter Lindgren, Kerstin Myrtenäs, Mats Forsman, Anders Johansson, Per Stenberg, Anders Nordgaard JA. A likelihood ratio-based approach for improved source attribution in microbiological forensic investigations. *Forensic Sci Int*. 2019;302.
41. Benschop CCG, van der Gaag KJ, de Vreede J, Backx AJ, de Leeuw RH, Zuñiga S, et al. Application of a probabilistic genotyping software to MPS mixture STR

- data is supported by similar trends in LRs compared with CE data. *Forensic Sci Int Genet.* 2021;52(February).
42. Mikkil M. Andersen DJB. Assessing the Forensic Value of DNA Evidence from Y Chromosomes and Mitogenomes. *Genes (Basel).* 2021;12(8).
 43. Jobling MA, Jobling MA. Forensic genetics through the lens of Lewontin : population structure , ancestry and race. 2022;377.
 44. Espinosa E. Datos Genéticos Forenses para 20 Marcadores de Identificación Humana de la Población de Panamá. *Rev Científica la Univ Espec las Américas [Internet].* 2021;1(13):87–102. Available from: <http://portal.amelica.org/ameli/%0AjatsRepo/443/4432090006/index.html>
 45. Mahdi Haidar, Fatimah A. Abbas, Hussain Alsaleh PRH. Population genetics and forensic utility of 23 autosomal PowerPlex Fusion 6C STR loci in the Kuwaiti population. *Sci Rep.* 2021;11(1965).
 46. & SD& PS& RKK& KK& HRD& HS, Choubey G. Forensic genetic analysis of population of Madhya Pradesh with PowerPlex Fusion 6CTM Multiplex System. *Int J Legal Med.* 2019;133(3):803–5.
 47. Yahya M Khubrani, Jon H Wetton MAJ. Analysis of 21 autosomal STRs in Saudi Arabia reveals population structure and the influence of consanguinity. *Forensic Sci Int Genet.* 2019;39:97–102.
 48. Noora R. Al-Snan, Safia Messaoudi, Saranya R. Babu MB. Population genetic data of the 21 autosomal STRs included in GlobalFiler kit of a population sample from the Kingdom of Bahrain. *PLoS One.* 2019;14(8).
 49. Mao Sun, XiaoNan Zhang, Dan Wu, Qi Shen YW. Population genetic data of 15 STR loci in Gansu Han population from China. *Int J Legal Med.* 2015;129(4).
 50. Jienan Li LZ. Forensic characteristics and genetic structure of 18 autosomal STR loci in the Sierra Leone population. *Int J Legal Med.* 2021;135(2):455–6.
 51. Tamiris Fátima Correia Pereira, Marcelo Malaghini, João Carlos Maciel Magalhães, Rodrigo Moura-Neto VSS. Genetic data for 26 autosomal STR markers from Brazilian population. *Int J Legal Med.* 2018;132(5):1305–7.
 52. José Alonso Aguilar-Velázquez, Mishel Marie Stephenson-Ojea, Marco David García-King HR-V. Genetic diversity, structure, and admixture in Mayans from Guatemala and Mexico based on 15 short tandem repeats. *Am J Phys Anthropol.* 2021;175(1):238–50.
 53. Jiang E, Zhang S, Pang H. Genotyping genetic markers from LCN and degraded DNA by HRM and their application in hair shaft. 2019;
 54. Cavanaugh SE, Bathrick AS. Direct PCR amplification of forensic touch and other challenging DNA samples: A review. Vol. 32, *Forensic Science International: Genetics.* Elsevier Ireland Ltd; 2018. p. 40–9.
 55. Kanokwongnuwut P, Martin B, Taylor D, Kirkbride KP, Linacre A. How many cells are required for successful DNA profiling? *Forensic Sci Int Genet.* 2021 Mar 1;51.
 56. Hadrill PR. Developments in forensic dna analysis. Vol. 5, *Emerging Topics in*

Life Sciences. Portland Press Ltd; 2021. p. 381–93.

57. Yang J, Lin D, Deng C, Li Z, Pu Y, Yu Y, et al. The advances in DNA mixture interpretation. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2019;301:101–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.05.024>
58. Hashom Mohd Hakim, Hussein Omar Khan, Japareng Lalung, Bryan Raveen Nelson, Geoffrey Keith Chambers HAE. Autosomal STR Profiling and Databanking in Malaysia: Current Status and Future Prospects. *Genes (Basel)*. 2020;11(10).