



## **Analisis de ADN: 12 Marcadores del Cromosoma Masculino en la Investigacion Criminal**

**Penacino, G.**

*Unidad de Análisis de ADN, Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímicos de Capital Federal, y  
Sociedad Latinoamericana de Genética Forense (SLAGF).*

### **Resumen**

*El cromosoma Y es un elemento acrocéntrico pequeño, que en su mayor parte no se recombina durante la meiosis. Por otro lado, dado que en él se localizan secuencias polimórficas, éstas serán cedidas de padres a hijos varones en forma obligada.*

*El presente trabajo emplea metodología de avanzada, consistente en 12 marcadores STRs, aprobados recientemente por las comisiones americanas y europeas de análisis de ADN, en un caso criminal ocurrido en una provincia argentina.*

*Con los resultados obtenidos, fué establecido el Índice de Incriminación entre las evidencia y uno de los imputados, a partir de la base de datos mundial del cromosoma Y.*

**Palabras Clave:** ADN, DNA, paternidad, filiación, cromosoma Y, genética forense, STRs, polimorfismos.



## Introduccion

El complemento cromosómico humano está compuesto por 46 elementos organizados en 23 pares. De estos, 22 son semejantes en hombres y mujeres y cada elemento del par presenta igual morfología, denominándose cromosomas autosómicos o autosomas. El par restante, llamado par sexual, tiene características diferenciales dependiendo del sexo considerado.

Los individuos de sexo femenino normales presentan el par sexual constituido por dos elementos homólogos con morfología semejante. En cambio, en los hombres el par correspondiente posee elementos disímiles, formado por un cromosoma metacéntrico mediano y un pequeño cromosoma acrocéntrico. El primero, denominado *cromosoma X* es el elemento presente en doble dosis en las mujeres, en tanto que el segundo, sólo presente en los varones, es denominado *Y*.

En el proceso de formación de células germinales femeninas sólo podrán generarse gametas que contengan un cromosoma X como elemento sexual, y por lo tanto la mujer cederá a su descendencia obligatoriamente un cromosoma X.

El varón, en cambio, podrá generar dos tipos de espermatozoides que diferirán en cuanto a la presencia de un cromosoma X o de un cromosoma Y, además de los 22 elementos autosómicos. Será por lo tanto el hombre quien determine el sexo de su descendencia, si en el espermatozoide fecundante el elemento sexual presente es un cromosoma X, el cigoto formado será de sexo femenino, mientras que si contiene un cromosoma Y el sexo del cigoto será masculino.

Debido a que en la mujer el par sexual está formado por dos elementos de morfología semejante, todos los genes y secuencias presentes estarán en condición diploide y por lo tanto si los dos alelos de un locus determinado son idénticos, la portadora será homocigota, si los alelos difieren, su condición será heterocigota, al menos en el locus referido. En el hombre, tanto el cromosoma X como el Y se encuentran como elementos únicos siendo su condición hemicigótica.



Ciertas características exhibidas por el cromosoma Y lo hacen particularmente útil para estudios de vínculo de parentesco así como de análisis de evidencias forenses.

## **Estructura y Características del Cromosoma Y.**

El cromosoma Y es un elemento acrocéntrico pequeño que sólo representa el 2% del complemento cromosómico. Contiene alrededor de  $6.10^7$  pares de bases. El 60% de este ADN está constituido por secuencias polimórficas, altamente repetidas, y está confinado principalmente a la porción heterocromática del brazo largo, desde Yq13 a Yqter [1], y a la región pericentromérica, sugiriendo que estas regiones tendrían una funcionalidad limitada.

Sin embargo, recientes investigaciones demuestran la existencia de genes y familias génicas localizadas en las regiones supuestamente no codificantes presentes en este cromosoma [2].

Debido a la falta de un elemento homólogo (lo que determina una haploidía parcial), la mayor parte del cromosoma Y no se recombina durante la meiosis. Sólo se produce recombinación con el cromosoma X en dos pequeñas regiones pseudoautosómicas denominadas PAR1 y PAR2 [3]. La falta de recombinación determina que todas las secuencias ubicadas en esta zona se hereden como un bloque constituyendo un grupo de ligamiento.

Por otro lado, dado que en este grupo de ligamiento se localizan secuencias polimórficas, éstas serán cedidas de padres a hijos en forma obligada. Las mutaciones constituyen las únicas fuentes posibles de variación que pueden producirse en estas regiones. En la Figura 1 se representa esquemáticamente la estructura y el bandeo G del cromosoma Y humano, indicando las regiones en las que puede producirse recombinación, Par 1 y Par 2, y las regiones de Eu y Heterocromatina.



## Las Regiones Polimórficas Presentes en el Cromosoma Y.

En el cromosoma Y existen secuencias polimórficas cuya variabilidad es reflejada en variantes de longitud, como es el caso de los microsatélites [4, 5] y los minisatélites [6] en los que las unidades de repetición pueden variar tanto en número como en secuencia.

Además de éstas, existen otras variantes como las de inserción/delección, de las cuales las más importantes son los elementos YAP *Alu* [7] y también simples sustituciones nucleotídicas.

Los polimorfismos presentes en este cromosoma proveen de una herramienta adicional en las metodologías de la identificación humana. En particular, los microsatélites hipervariables han contribuido en gran medida en este campo debido al gran número de tales marcadores disponibles, los que han sido ya validados en el ámbito forense internacional. [5,8].

La posibilidad de determinar vínculos de filiación en ausencia del progenitor [9], la investigación de la identidad y sexo en desastres en masa [10,11] y la identificación de responsables en casos de violación tanto hetero como homosexual, constituyen algunos de los campos de aplicación forense de los marcadores de microsatélites del cromosoma Y.

Antecedentes del Empleo de Marcadores Hipervariables del Cromosoma Y en la Identificación Forense.

Los estudios iniciales fueron enfocados hacia la región denominada Y27H39 (conocida actualmente como DYS19), que demostraron su utilidad tanto en estudios antropológicos [12] como en análisis de paternidad en ausencia de progenitor masculino [9].

Si bien la aplicabilidad resultaba limitada por no disponer de marcadores adicionales, tal restricción pudo ser posteriormente superada. La detección y validación de un gran número de secuencias polimórficas presentes en el cromosoma Y [1], hizo posible la realización de estudios más completos a nivel poblacional, y su aplicación inmediata tanto en estudios de filiación deficientes como en casos forenses [5, 13,14].



El presente trabajo emplea la metodología más avanzada, consistente en 12 marcadores STRs, aprobados recientemente por las comisiones americanas y europeas de análisis de ADN, en un caso criminal ocurrido en la provincia de Tucumán (Argentina).

## **Materiales y Metodos**

### **Muestras**

Se analizaron muestras provenientes de la violación y homicidio de un niño, consistentes en: hisopado anal, sangre de tres imputados, y un pelo pubiano hallado en el niño. Además, como no se contaba con material biológico indubitado de la víctima (ya inhumada), se analizó una muestra sanguínea de su padre.

### **Reactivos y condiciones empleadas.**

Se efectuaron extracciones de ADN en forma diferencial para el hisopado anal, obteniéndose por separado material epitelial (A) y espermático (B), y las muestras sanguíneas y el pelo de acuerdo con protocolos desarrollados previamente por el autor, descritos en detalle en [15].

Para el análisis genético se empleó el PowerPlex Y System, cedido gentilmente por la empresa Promega ([www.promega.com](http://www.promega.com)) a nuestra Unidad de Análisis de ADN (Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímicos de Capital Federal), que permite la amplificación simultánea (en una única reacción de PCR) de 12 regiones variables del cromosoma Y (Tabla 1), y su detección en tres colores.

La mezcla de reacción y la condiciones de amplificación fueron las sugeridas por el fabricante.

La detección se efectuó en un secuenciador automático ABI 377.



## Resultados

Los resultados obtenidos se describen en la Tabla II. Obsérvese la total coincidencia entre el hisopado (B), consistente en material espermático, el pelo pubiano, y el "imputado 1". Además, de acuerdo con lo esperado, el hisopado (A) coincide con el padre de la víctima, que tiene idéntico cromosoma Y que el niño.

Nótese también que el "imputado 2" presenta ocho (8) marcadores con idéntica variante que las evidencias (hisopado y pelo pubiano), por lo cual, de haberse analizado únicamente esos ocho marcadores, se lo hubiera incriminado erróneamente.

Con los resultados obtenidos, fué establecido el Índice de Incriminación a partir de la base de datos mundial del cromosoma Y ([www.ystr.org](http://www.ystr.org)), considerando solamente los nueve marcadores del "haplotipo mínimo", ya que no contiene al DYS 437, DYS 438 ni DYS 439. No existe, hasta el momento, ninguna base de datos que incluya el haplotipo de 12 marcadores.

En la causa judicial, estos resultados fueron complementados con marcadores autosómicos.

## Discusion

Los marcadores ubicados en el cromosoma masculino resultan de gran utilidad en el establecimiento de vínculos biológicos de parentesco, y en la investigación de crímenes sexuales, con una obvia limitación: todos los individuos de la misma línea paterna compartirán idéntica información en estos haplotipos, por lo cual no será posible desvincular individuos relacionados por vía paterna de la posible existencia de vínculo de parentesco o filiación, ni tampoco descartar al hermano de un sospechoso si sólo analizamos marcadores presentes en este cromosoma. En consecuencia, las evidencias deberán ser, en todos los casos, evaluadas también mediante marcadores autosómicos.

Es de destacar la importancia de analizar 12 marcadores y no un número menor, como postulábamos antiguamente, ya que la coincidencia observada en el presente trabajo entre uno de los imputados (excluido luego), y las evidencias, se extiende hasta 8 marcadores. Entonces, un laboratorio que se limitara solamente a esos sistemas lo involucraría erróneamente como el emisor de las evidencias.



Como perspectiva futura, deberán desarrollarse bases de datos que permitan una adecuada evaluación estadística de la totalidad de los 12 marcadores, y no solamente 9 de ellos, como ocurre actualmente.

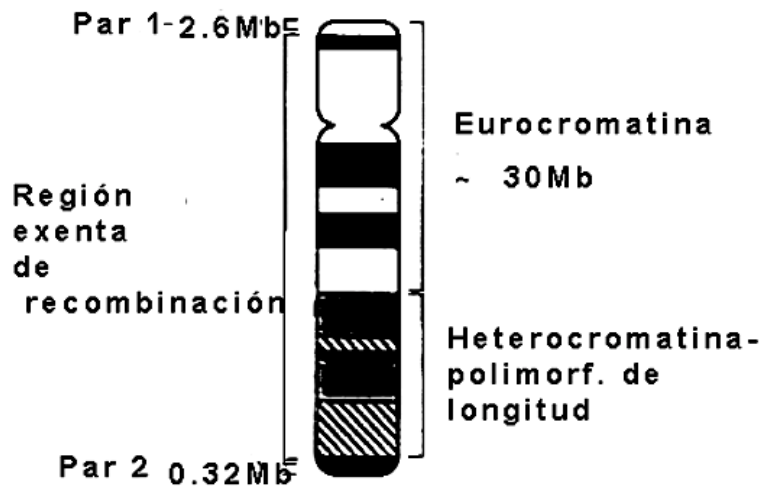


Figura 1: Bando G del cromosoma Y humano. La recombinación entre cromosoma Y y X solamente ocurre en dos regiones pseudoautosómicas (PAR1 y PAR2). Se indica la dimensión aproximada (en millones de pares de bases o Mb de cada región considerada).

## INFORMEDICA 2004

**INFORMATION & COMMUNICATION TECHNOLOGIES  
IN HEALTHCARE DEVELOPMENT  
3<sup>rd</sup> VIRTUAL CONGRESS IN INTERNET: March 1<sup>st</sup> to 30<sup>th</sup>, 2004**



[www.informetica.org/2004](http://www.informetica.org/2004)

**Tabla 1. Características de los marcadores variables del cromosoma Y analizados.**

Y-STR	Localización	Nro. acceso GenBank	Secuencia repetida
DYS 391	Yq	G09613	TCTA
DYS 389 I/II	Yq	AF140635	[TCTG] [TCTA] complejo
DYS 439	Yq	AC002992	GATA
DYS 393	Yp	G09601	AGAT
DYS 390	Yq	AC011289	[TCTG] [TCTA] complejo
DYS 385 a/b	Yq	Z93950	GAAA
DYS 438	Yq	AC002531	TTTTTC
DYS 437	Yq	AC002992	[TCTA] [TCTG] complejo
DYS 19	Yp	X77751	TAGA complejo
DYS 392	Yq	G09867	TAT

**Tabla II. Resultados obtenidos para los 12 marcadores.**

Muestra	DYS 19	DYS 389 I	DYS 389 II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 385	DYS 437	DYS 438	DYS 439
Hisopado (A)	14	12	29	24	11	11	12	16-17	15	9	12
Hisopado (B)	14	13	29	24	11	13	14	11-14	14	12	12
Imputado 1	14	13	29	24	11	13	14	11-14	14	12	12
Imputado 2	14	14	30	24	11	13	13	11-14	15	12	12
Imputado 3	14	14	30	24	11	14	13	11-15	15	12	11
Padre víctima	14	12	29	24	11	11	12	16-17	15	9	12
Pelo pubiano	14	13	29	24	11	13	14	11-14	14	12	12



## Referencias

- 1- Roewer L., Kayser M., Dieltjes p., Nagy M., Bakker E., Krawczak M., de Knijff P. (1996). Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations. *Hum Mol Genet*, vol5, nro 7:1029-1033.
- 2- Lahn B. and Page D (1997) Functional coherence of the human Y chromosome. *Science* 278: 675-680.
- 3- Jobling M.A., Pandya A., Tayler-Smith C. (1997). The Y chromosome in forensic and paternity testing. *Int J Legal Med* 110:118-124.
- 4- Roewer L., Armemann J., Spurr N.K., Grzeschik K.H., Epplen J.T. (1992). Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. *Hum. Genet.* 89: 389- 394.
- 5- Kayser M., Caglia A., Corach D., Fretwell N., Gehrig C., Graziosi G., Heidorn F., Herrman S., Herzog B., Hidding M., Honda K., Jobling M., Krawczak M., Leim K., Meuser S., Meyer E., Oesterreich W., Pandya A., Parson W., Penacino G., Perez-Lezaun A., Piccinini A., Prinz M., Schmitt C., Schneider P.M., Szibor R., Teifel-Greding J., Weichhold G., de Knijff P., Roewer L. (1997). Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study. *Int J Legal Med* 110: 125-133.
- 6- Jobling M, Bouzekry N, Fretwell N, Dober G, Jeffreys A (1996) Digital DNA typing of human paternal lineages. In: Boyce A. J., Mascie-Taylor C.G.N. (Eds) *Molecular Biology and Human Diversity*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 12-23.
- 7- Hammer M (1994) A recent insertion of an Alu element on the Y chromosome is a useful marker for human population studies. *Mol Biol Evol* 11: 749-761.
- 8- de Knijff P., Kayser M., Caglia A., Corach D., Fretwell N., Gehrig C., Graziosi G., Heidorn F., Herrman S., Herzog B., Hidding M., Honda K., Jobling M., Krawczak M., Leim K., Meuser S., Meyer E., Oesterreich W., Pandya A., Parson W., Penacino G., Perez-Lezaun A., Piccinini A., Prinz M., Schmitt C., Schneider P.M., Szibor R., Teifel-Greding J., Weichhold G., Roewer L. (1997). Chromosome Y microsatellite: population genetic and evolutionary aspects. *Int J Legal Med* 110: 134-140.
- 9- Santos F.R., Epplen J.T. and Pena S.D.J. (1993). Testing deficiency paternity cases with a Y-linked tetranucleotide repeat polymorphism. *DNA Fingerprinting: State of the Science*. 261-265.
- 10- Corach D., Sala A., Penacino G. and Sotelo A. (1995). Mass Disasters: Rapid Molecular Screening of Human Remains by Means of STRs Typing. *Electrophoresis* 16 (9):1617-1623.

## INFORMEDICA 2004

INFORMATION & COMMUNICATION TECHNOLOGIES  
IN HEALTHCARE DEVELOPMENT  
3<sup>rd</sup> VIRTUAL CONGRESS IN INTERNET: March 1<sup>ST</sup> to 30<sup>th</sup>, 2004



[www.informetica.org/2004](http://www.informetica.org/2004)

11- Corach D., Sala A., Penacino G., Iannucci N., Bernardi P., Doretti M., Fondebrider L., Ginarti A., Inchaurregui A., Somigliana C., Turner S., Hagelberg E. (1997). Additional approaches to DNA typing of skeletal remains: The search for "missing" persons killed during the last dictatorship in Argentina. *Electrophoresis* 18:1608-1612.

12- Roewer L., Nagy M., Schmidt P., Epplen J.T. and Herzog-Shroder G. (1993). Microsatellite and HLA class II oligonucleotide typing in a population of Yanomami Indians. *DNA Fingerprinting: State of the Science*, Birkhäuser Verlag, 221-230.

13- Penta, nona and decaplex Y-STR typing systems: a comparative study. Sala A, Hedman M, Marino M, Sajantila A, Penacino G and Corach D. *International Congress Series 1239*, Elsevier Science (2003): 873-877.

14- Martínez Jarreta B "LA PRUEBA DEL ADN EN MEDICINA FORENSE". Ed. MASSON, ISBN 84-458-0816-8. Capítulo "MARCADORES DEL CROMOSOMA Y EN LA IDENTIFICACION DE RASTROS DE INTERES FORENSE Y EN EL RASTREO DE LA LINEA PATERNA" (pág. 84-94). Autores: D. Corach, G. Penacino y A. Sala.

15- Penacino G. Tesis doctoral, 1997. Facultad de Farmacia y Bioquímica (Universidad de Buenos Aires, Argentina). Disponible en [www.secretpaternity.com](http://www.secretpaternity.com).

### Datos de contacto:

Dr. Gustavo A. Penacino, Director de la Unidad de Análisis de ADN, Colegio Oficial de Farmacéuticos y Bioquímicos de Capital Federal, Rocamora 4045, Buenos Aires, Argentina. Tel (54-11) 4862-0436/1020. Fax (54-11) 4862-4417. Email: [gpenacino@wwiecorp.com](mailto:gpenacino@wwiecorp.com) Website: [www.adn.ac](http://www.adn.ac)

Presidente de la Sociedad Latinoamericana de Genética Forense (SLAGF). Email: [presidente@slagf.org](mailto:presidente@slagf.org) Website: [www.slagf.org](http://www.slagf.org)