

Martha Liliana Acevedo Neira*
Blanca Yanine Bocanegra Cruz**

Uso del ADN forense en la Policía Nacional para identificación de alias "Édgar Tovar"

Forensic Use of DNA in the National Police to identification of alias «Edgar Tovar»

Uso de DNA forense na Polícia Nacional para a identificação das alias "Tovar Edgar»

Revista LOGOS CIENCIA & TECNOLOGÍA ISSN 2145-549X,
Vol. 2, No. 1, Julio - Diciembre 2010, pp. 138-142

Resumen

El análisis genético de fragmentos óseos tomados de un cuerpo en descomposición permitió confirmar la muerte de alias "Édgar Tovar", comandante y responsable del narcotráfico del frente 48 de las Farc. El perfil genético obtenido de los restos humanos fue comparado con la información del ADN nuclear y de cromosoma Y, del padre de Ángel Gabriel Lozada García, obteniendo una probabilidad estadística de paternidad de 99.991% y una coincidencia total en la información contenida en los marcadores de cromosoma Y analizados, lo que sumado a labores investigativas de la Policía Nacional se consideró suficiente para determinar la identificación del cuerpo.

Fecha de recepción del artículo: 30 de junio de 2010.
Fecha de aceptación del artículo: 4 de agosto de 2010.

* M.Sc. en Biología, Pontificia Universidad Javeriana. Dirección de Investigación Criminal e Interpol. Correo electrónico: martha.acevedo@correo.policia.gov.co.

**Bacterióloga, Universidad Católica de Manizales. Dirección de Investigación Criminal e Interpol. Correo electrónico: blanca.bocanegra@correo.policia.gov.co.

Palabras clave

Perfil genético, ADN, Cromosoma Y, Identificación Humana, Paternidad, Haplotipo.

Abstract

The genetic analysis of bones fragments taken from a decomposing body, confirmed the death of Alias «Edgar Tovar», commander of the 48th group of the FARC and the drug trafficking responsible for the guerrilla group. The genetic profile obtained from the human remains was compared with information obtained from nuclear DNA and Y chromosome, the father of Angel Gabriel Lozada García, obtaining a statistical probability of paternity of 99.991% and a total match on the information contained in markers analyzed Y chromosome, which was considered sufficient to determine the identification of the body.

key words

Genetic Profile, DNA, Y Chromosome, Human Identification, paternity, Haplotype.

Resumo

A análise genética de fragmentos ósseos retirados de um corpo em decomposição permitiu confirmar a morte de Alias «Edgar Tovar», comandante e responsável da Frente 48 das FARC. O perfil genético obtido a partir dos restos humanos foi comparado com as informações obtidas a partir do DNA nuclear e do cromossomo Y, do pai de Angel Gabriel Lozada García, com a obtenção de uma probabilidade estatística de paternidade de 99.991% e uma coincidência total sobre as informações contidas nos marcadores do cromossomo Y analisados e que, combinados com os esforços da Polícia Nacional, foram considerados suficientes para determinar a identificação do corpo.

Palavras-chave

Perfil genético, DNA, Y-Cromossomo, Identificação Humana, Paternidade, Haplótipo

INTRODUCCIÓN

Alias “Édgar Tovar” era el comandante del frente 48 de las Farc y responsable del narcotráfico para el grupo guerrillero; durante un bombardeo en la ejecución de la “Operación fortaleza” del pasado 20 de enero en un operativo conjunto entre la Policía Nacional y la Fuerza Aérea en el Departamento del Putumayo se dio de baja al menos a 10 miembros del grupo guerrillero. Entre las bajas había un cuerpo que no estaba plenamente identificado. Mientras se establecía su identidad, la guerrilla se preguntaba afanosamente cuál sería la suerte de su comandante alias ‘Édgar Tovar’, pues después del bombardeo y de la persecución policial en tierra, no tenían más noticias de su paradero.

Al Laboratorio de Genética Forense de la DIJIN fueron allegados fragmentos óseos correspondientes al fémur y húmero, identificados al momento como “cuerpo NN” de acuerdo con la documentación recibida. Se extrajo material genético ADN del núcleo de las células óseas, a partir del cual se obtuvo como resultado un perfil genético perteneciente a un individuo de sexo masculino, el cual fue codificado y almacenado bajo custodia.

Transcurridos dos meses luego de estos análisis, el Laboratorio recibió solicitud escrita de autoridad judicial competente, para realizar toma de muestra biológica de referencia, a un individuo quien fuere el padre de Ángel Gabriel Lozada García, se procesara, obtuviera el ADN y se realizara comparación con el ADN

de los restos óseos del “cuerpo NN” con el fin de establecer un vínculo de paternidad que permitiera la identificación genética del cuerpo.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

De acuerdo con la experiencia, y a lo descrito en la bibliografía científica (Milos A et. Al, 2007), cuando se trata de cuerpos en avanzado estado de descomposición o cuerpos en reducción esquelética, las únicas muestras adecuadas para el estudio genético son las estructuras dentales y las muestras óseas (preferiblemente huesos largos), por lo tanto, en este caso se procesaron un fragmento de fémur y un fragmento de húmero (allegados para el análisis).

Los fragmentos óseos fueron sometidos a proceso de corte, pulido y lavados para eliminar los restos de contaminantes externos, utilizando un detergente suave e hipoclorito de sodio y lavados varias veces con agua destilada y etanol 80% para su posterior secado. Se pulverizaron con metodología utilizando nitrógeno líquido (este método permite obtener un polvo más fino, adecuado para uso con microfiltros de concentración) (Primorac D et al. 1996). Posterior-

Los fragmentos óseos fueron sometidos a proceso de corte, pulido y lavados para eliminar los restos de contaminantes externos, utilizando un detergente suave e hipoclorito de sodio y lavados varias veces con agua destilada y etanol 80% para su posterior secado.

mente se realizó una desmineralización o remoción de iones de calcio y proteínas entre otros; el ADN de los restos óseos se extrajo del interior de las células, utilizando el buffer de lisis (Tris 10mM pH 8.0, NaCl 100 mM, EDTA 50 mM pH 8.0, SDS 1%) y 100 ¼l de Proteinasa K 20 mg/ml, cuya mezcla se incubó toda la noche a 56°C. Después se realizó la extracción aplicando el método orgánico que utiliza fenol-cloroformo-alcohol isoamílico en proporción 25:24:1, el cual se complementó realizando sobre este una segunda extracción con Chelex 100 y concentración en Microcon YM-100; el ADN procedente de la mancha sanguínea de referencia se extrajo aplicando el protocolo estándar de Chelex 100 (Walsh P, 1991). Posteriormente, el ADN obtenido de los restos óseos fue sometido a un proceso de cuantificación por PCR en

Tiempo Real (sigla en inglés de la Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando el kit Quantifiler (Applied Biosystems, 2003) y el equipo Real Time PCR 7500, se generó una curva estándar con el fin de determinar la concentración y calidad de material genético obtenido de cada muestra. Se utilizó como control, diluciones de ADN genómico 9947A. La reacción se realizó en un volumen total de 25 $\frac{1}{4}$ L y se tomaron 2 $\frac{1}{4}$ L del ADN extraído por muestra; se aplicaron las condiciones de termociclaje de acuerdo con los protocolos del fabricante.

El ADN procedente de las extracciones fue amplificado con 5 μ l del extracto para cada muestra, utilizando el kit Identifiler (Applied Biosystems, 2003) para análisis de los STRs D3S1358, D16S539, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D7S820, D13S317, D2S1338, D19S433 y Amelogenina para determinación de género masculino o femenino; adicionalmente estudiamos las muestras para obtener el haplotipo del cromosoma Y y establecer un vínculo filial entre las piezas óseas y la muestra de referencia a través del linaje paterno por medio del kit multiplex Yfiler que incluye los sistemas DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, GATAH4, DYS437, DYS438, DYS448; las reacciones siguieron las condiciones determinadas en la validación de los kits. Los fragmentos STR amplificados fueron separados en un Analizador Genético ABI PRISM 310 bajo las condiciones de rutina. Los datos de los resultados se analizaron usando el software GeneMapper ID versión 3.2 (Applied Biosystems). Se utilizó como estándar interno LIZ 500.

En situaciones como este caso, donde no están disponibles los tríos de parentesco (padre-madre-hijo), se realizan las comparaciones de genotipos entre los restos humanos y familiar disponible en primer grado de consanguinidad.

2. RESULTADOS

Dos muestras pertenecientes a un individuo no identificado (fémur, humero) fueron sometidas al proceso de extracción de ADN; los resultados obtenidos en la cuantificación fueron de 0.084 y 0.052 ng/ μ l, respectivamente. En la amplificación realizada con el kit Identifiler, se obtuvo resultado en los 15 marcadores genéticos incluidos y la amelogenina, la cual mostró que las piezas óseas analizadas provienen de un individuo de sexo masculino; en la amplificación del mate-

rial genético realizada para el cromosoma Y con el kit Yfiler, se obtuvo resultado en los 16 marcadores genéticos incluidos; la Muestra biológica (sangre) en tarjeta FTA tomada al presunto padre fue amplificada utilizando los mismos kits y se obtuvo resultado en todos los sistemas STR analizados tanto nuclear como del cromosoma Y.

Teniendo en cuenta que la mitad de la información del ADN nuclear se hereda del padre y la otra mitad de la madre, y que por lo tanto, el hijo debe poseer la mitad de la información genética igual a la del padre, los perfiles de ADN de los fragmentos óseos y del presunto padre se compararon entre sí, con el fin de establecer un vínculo filial.

Al analizar cada uno de los sistemas genéticos de los STRs estudiados con el kit Identifiler, se encontró que los dos fragmentos óseos tienen exactamente el mismo perfil, lo cual indica que proceden del mismo cuerpo; al comparar este perfil genético con el de la muestra de referencia (que sugiere ser familiar en primer grado de consanguinidad: padre-hijo), se encontró una NO EXCLUSIÓN, es decir que comparten información en todos los marcadores genéticos analizados.

Igualmente, al analizar los resultados del Cromosoma Y, se observó que la información genética obtenida es igual entre todas las muestras sometidas al análisis, lo cual muestra que NO SE EXCLUYE que las muestras óseas y la muestra de referencia pertenezcan al mismo linaje paterno.

Posteriormente, con base en los resultados obtenidos, se realizaron los cálculos estadísticos de probabilidad, con el fin de calcular el índice y la probabilidad estadística de paternidad, la cual de acuerdo a la Ley 721 de diciembre de 2001, se indica que "...en todos los procesos para establecer paternidad o maternidad, el juez, de oficio, ordenará la práctica de los exámenes que científicamente determinen índice de probabilidad superior al 99.9%..." y que "...en los casos de presunto padre o presunta madre o hijo fallecidos, ausentes o desaparecidos la persona jurídica o natural autorizada para realizar una prueba con marcadores genéticos de ADN para establecer la paternidad o maternidad utilizará los procedimientos que le permitan alcanzar una probabilidad de parentesco superior al 99.99% o demostrar la exclusión de la paternidad o maternidad". Los cálculos realizados en el Laboratorio arrojaron un índice de paternidad acumulado de 11.354, lo que significa que es once mil tres-

cientas cincuenta y cuatro veces más probable, que el individuo al que pertenecieron los fragmentos óseos, sea el hijo biológico del individuo que aportó la muestra de referencia, a que lo sea otro individuo al azar de la población; la probabilidad de paternidad fue de 99,99%, es decir una paternidad prácticamente probada, ya que cumple con lo exigido por ley. Lo cual indicó que existe una relación filial entre las piezas óseas recibidas para análisis en el laboratorio y la muestra de referencia del padre. Finalmente, gracias a las labores investigativas previas y con el informe genético se logro comprobar que el cuerpo correspondía al mismo ALIAS TOVAR.

3. DISCUSIÓN

El ADN es útil en la identificación de restos humanos y en investigación criminal por varias razones: es único y las leyes de la herencia Mendeliana permiten demostrar la presencia de segmentos del ADN igual a la de los padres. Este puede ser analizado a partir de manchas de sangre, pelos o cualquier muestra biológica que involucre la presencia de tejidos, huesos o dientes y ser comparado. El análisis de ADN puede proporcionar información importante como el sexo y el perfil de ADN de los individuos.

Con la experiencia de más de 3 años en el proceso de identificación, se concluye que el éxito de la amplificación del ADN extraído de restos esqueléticos depende de varios factores, entre ellos citamos el método de extracción de ADN, el estado de degradación del material genético que incluye el tiempo transcurrido desde la muerte, ubicación de fosas comunes, procedimientos de almacenamiento de muestras, altas temperaturas, presencia de sales, agua o las condiciones del suelo (metales, ácidos, bacterias), el tipo de huesos analizados, siendo los huesos largos y los dientes los que proporcionan mejores resultados, el porcentaje de inhibidores, tamaño de los productos STR, concentración de ADN entre otros; adicionalmente, es muy importante contar con la posibilidad de una base de datos que permita la correlación de la información.

En este caso, el método de extracción de ADN utilizado, proporcionó suficiente cantidad de ADN para la amplificación por la metodología de reacción de PCR y a través de su aplicación se ha mostrado una eliminación alta de inhibidores de la PCR, obteniendo un perfil completo tanto de STR autonómicos como de cromosoma Y.

Para determinar estadísticamente la exactitud de la prueba, se calcula el índice de paternidad, el cual determina el número de veces en las que el presunto padre tiene la probabilidad de ser el padre biológico del individuo, comparado con cualquier hombre escogido al azar de la población de referencia. Cuando no se cuenta con muestras de alguno de los padres, se puede obtener un índice de paternidad utilizando muestras de uno solo de ellos.

En este caso, la madre no se encuentra disponible para realizar la prueba, razón por la cual se utilizó el método STR de Cromosoma Y, que puede ser utilizado en conjunción con la prueba nuclear por ADN-STR para comprobar filiación.

Para el caso de STRs de cromosoma Y, cualquier miembro de una línea paterna, incluyendo hermanos, tíos paternos, primos paternos, pueden ser usados para la comparación y determinación de una coincidencia o una exclusión. Los cromosomas Y-STR son transmitidos de forma descendente de padres a hijos, de generación en generación, y son usados con el fin de rastrear el linaje exclusivo a la población masculina.

Gracias a los análisis del material genético extraído a restos óseos en el Laboratorio de Genética Forense de la Policía Nacional ubicado en la DIJIN, fue posible confirmar la muerte del citado guerrillero.

BIBLIOGRAFÍA

ALONSO, A., ANDINOVIC, S., MARTIN, P., SUTLOVIC, D., PRIMORAC, D et al. (2001). DNA typing from skeletal remains: Evaluation of Multiplex and Megaplex STR systems on DNA isolated from bone and Teeth samples. *Croatian Medical Journal*. 42(3):260-266.

ARISMENDI, J., BAKER, L., MATTESON, K. (2004). Effects of Processing Techniques on the Forensic DNA Analysis of Human Skeletal Remains. *Journal Forensic Sciences*. 49(5): 930-934. _____Quantifiler™ Human DNA Quantification Kit User Manual. Foster City (CA): Applied Biosystems; 2003.

ANDELINOVIC, S., SUTLOVIC, D., IVKOSIC, I., SKARO, V., IVKOSIC, A., PAIC, F., REZIC, B., DEFINIS-GOJANOVIC, M., PRIMORAC, D. (2005). Twelve-year Experience in the Identification of Skeletal Remains from Mass Graves. *Journal Forensic Sciences*. 46(4): 530-539.

MILOS A, et. al. (2007). Success Rates of Nuclear Short Tandem Repeat Typing from Different Skeletal Elements. *Croatian Medical Journal*. 48:486-93

PRIMORAC D, ANDELINOVIC S, DEFINIS-GOJANOVIC M, DRMIC I, REZIC B, Baden MM, et al. (1996). Identification of war victims from mass graves in Croatia, Bosnia, and Herzegovina

by use of standard forensic methods and DNA typing. *Journal Forensic Sciences*. 41:891-4.

WALSH P, METZGER D, HIGUCHI R. (1991). Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. *BioTechniques*, 10:506-513.