

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του τμήματος Βιοχημείας και
Βιοτεχνολογίας

ΙΩΑΝΝΑ ΛΑΓΟΥ

DNA PHENOTYPING: Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΩΝ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

2022

UNIVERSITY OF THESSALY
Postgraduate Master Studies
Department of Biochemistry and Biotechnology

IOANNA LAGOU

**DNA PHENOTYPING: THE UTILITY OF DNA EXTERNALLY VISIBLE
CHARACTERISTICS PREDICTION IN FORENSIC SCIENCE**

2022

**DNA Phenotyping: Η χρησιμότητα πρόβλεψης των φαινοτυπικών
χαρακτηριστικών στην ιατροδικαστική έρευνα**

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κοβάτση Λήδα – Καλλιόπη : Χημικός-Τοξικολόγος, Ιατρός-Ειδική Ιατροδικαστής,
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής ΑΠΘ,
Θεσσαλονίκη

Κουρέτας Δημήτριος: Καθηγητής Φυσιολογίας-Τοξικολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και
Βιοτεχνολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών - Τοξικολογίας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Τσιτσιμπίκου Χριστίνα: Toxicological and Clinical Analyst and Administrator, Γενικό
Χημείο Κράτους, Εθνικό γραφείο στήριξης REACH & CLP

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος - Ευχαριστίες.....	4
Περίληψη.....	5
Abstract.....	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - Η εξέλιξη της ιατροδικαστικής έρευνας πριν και μετά την θέσπιση του DNA ως πρωταρχικό μέσο στην εξιχνίαση υποθέσεων.....	7
1.1. Η σημασία των μοριακών δεικτών και των πληθυσμιακών μελετών..	8
1.2. Εξιχνίαση με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων και αναζήτησης συγγενικών σχέσεων (familial searching).....	12
1.3. Η συμβολή της επιγενετικής.....	13
2. DNA phenotyping: εξαγωγή συμπερασμάτων για τον φαινότυπο με ανάλυση του γονότυπου.....	15
2.1. Εργαλεία ανάλυσης του γενετικού υλικού με στόχο το DNA phenotyping.....	18
2.1.1. Το σύστημα IrisPlex.....	19
2.1.2. Το σύστημα HIrisPlex.....	21
2.1.3. Το σύστημα HIrisPlex-S.....	26
2.1.4. Πρόβλεψη επιπλέον χαρακτηριστικών.....	30
2.2. Οι ιδιαιτερότητες του μιτοχονδριακού DNA και του χρωμοσώματος Y και η βιογεωγραφική καταγωγή στην πρόβλεψη φαινοτύπων.....	41
2.3. Εφαρμογές των νέων τεχνολογιών στην εγκληματολογία.....	44
3. Βιοηθικοί προβληματισμοί: Είναι το DNA πανάκεια για την δικανική επιστήμη;.....	48
3.1. Ανθρώπινα δικαιώματα και ελευθερίες.....	49
3.2. Ισχύουσα νομοθεσία για το DNA phenotyping στην Ελλάδα και τον κόσμο.....	53
Βιβλιογραφία.....	56

Πρόλογος - Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κατά το ακαδημαϊκό έτος 2021-2022 υπό την επίβλεψη της Διευθύντριας του Εργαστηρίου και αναπληρώτριας καθηγήτριας, κ. Λήδας Κοβάτση.

Καταρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Κοβάτση για την ευκαιρία που μου έδωσε να εγκλιματιστώ στο εργαστηριακό και εργασιακό της περιβάλλον και, παρά τις δυσκολίες που μπορεί να προέκυψαν, να συλλέξω πολύτιμες εμπειρίες και γνώσεις ως εφόδια για την μετέπειτα πορεία μου. Στον χώρο του εργαστηρίου είχα τη δυνατότητα να παρακολουθήσω διαδικασίες αναφορικά με την διερεύνηση πατρότητας, μητρότητας και συγγενικών σχέσεων, αλλά και να υιοθετήσω έναν διαφορετικό τρόπο σκέψης και αντίληψης.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Δομνίκη Φράγκου, εργαζόμενη του Τμήματος DNA του εργαστηρίου για την πολύτιμη βοήθεια, την υποστήριξη, την προθυμία και τις συμβουλές, από την αρχή μέχρι το τέλος της εργασίας μου.

Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς την οικογένεια και τους φίλους μου για την αμέριστη υποστήριξή τους.

Περίληψη

Από τα δακτυλικά αποτυπώματα ως την PCR, την αλληλούχιση του γονιδιώματος και τη δημιουργία γενετικού προφίλ, η ιατροδικαστική έρευνα εξελίσσεται διαρκώς και προσεγγίζει όλο και περισσότερο στον στόχο της. Η χρήση μοριακών δεικτών STRs και βάσεων δεδομένων με καταχωρημένα γενετικά προφίλ για την ταυτοποίηση ενός υπόπτου είναι η επικρατούσα διαδικασία παγκοσμίως. Τι συμβαίνει όμως όταν δεν υπάρχουν καταγεγραμμένα γενετικά δεδομένα; Η μέθοδος του DNA phenotyping δίνει τη δυνατότητα πρόβλεψης φαινοτυπικών χαρακτηριστικών, βιογεωγραφικής καταγωγής, αλλά και ηλικίας, με μοναδικό στοιχείο το DNA από τον τόπο του εγκλήματος ή το DNA αγνοουμένων και με βάση τη συχνότητα αλληλομόρφων, τα οποία σχετίζονται με συγκεκριμένα εξωτερικά χαρακτηριστικά (EVCs). Το πιο ολοκληρωμένο εργαλείο μέχρι στιγμής θεωρείται το σύστημα HirisPlex-S, καθώς επιτρέπει ταυτόχρονη πρόβλεψη τριών χρωστικών, των ματιών, των μαλλιών και του δέρματος με βάση γενετικούς δείκτες SNPs. Πλην τούτων, άλλα δευτερεύοντα χαρακτηριστικά, όπως το ανάστημα, η μορφολογία του προσώπου και του τριχωτού της κεφαλής, βρίσκονται υπό διερεύνηση, ενώ ο προσδιορισμός της ηλικίας επιτυγχάνεται με τη βοήθεια της επιγενετικής. Οι δυνατότητες σύνδεσης του mtDNA και των απλοομάδων του χρωμοσώματος Y με την μητρική και πατρική γραμμή αντίστοιχα, μπορούν να εισφέρουν επιπλέον στοιχεία βιογεωγραφικής καταγωγής. Οι εφαρμογές του DNA phenotyping στην αστυνομική έρευνα έχουν ως στόχο τον περιορισμό των υπόπτων σε ένα μικρότερο υποσύνολο, παρά στον εντοπισμό ενός συγκεκριμένου ατόμου. Ωστόσο, ηθικά ζητήματα που αφορούν σε περιορισμούς των ελευθεριών και μεροληπτικές συμπεριφορές προς τους πιθανούς υπόπτους, εμποδίζουν προς το παρόν την υιοθέτηση ενός ευρύτερου νομοθετικού πλαισίου.

Abstract

From the discovery of fingerprints to PCR, genome sequencing and DNA profiling development, forensic science is a constantly evolving field by effectively responding to its goal. The use of molecular STR markers and databases with registered genetic profiles for suspect identification is the worldwide prevailing process. What happens, though, when no previous genetic data is recorded? Forensic DNA phenotyping (FDP) enables the prediction of externally visible characteristics (EVCs), namely the perpetrator's appearance, biogeographical ancestry and age, by only using DNA from the crime scene or the DNA of missing persons/disaster victims and by evaluating the allele frequency from which ECVs are derived. The HirisPlex-S system is currently considered to be the most complete tool, as it allows the simultaneous prediction of three pigmentation traits, eyes, hair and skin colour, based on genetic SNP markers. To date, other more complex characteristics, such as body height, facial morphology and hair structure, are under investigation, while the determination of age is achieved via epigenetics. The potential of inferring the maternal and paternal lineage from mitochondrial and Y chromosome haplogroups respectively, may provide additional biogeographical evidence. The applications of FDP in the police investigation are restricted at limiting the suspects to a smaller subset, rather than locating one specific individual. However, ethical concerns related to privacy violation and discrimination towards potential suspects are currently hampering the adoption of a broader legal framework.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - Η εξέλιξη της ιατροδικαστικής έρευνας πριν και μετά την θέσπιση του DNA ως πρωταρχικό μέσο στην εξιχνίαση υποθέσεων

“Κανένα έγκλημα δεν μπορεί να διαπραχθεί χωρίς ο δράστης να αφήσει κάποιο ίχνος”. Αυτή ήταν η αρχή του δρ. Edmond Locard, πρωτοπόρου στην ιατροδικαστική έρευνα στις αρχές του 20ου αιώνα, ο οποίος εξήρε τη σημασία των αποδεικτικών στοιχείων για την έκβαση της έρευνας αξιόποινων πράξεων. Ήδη από τις αρχές του 1800, η ανακάλυψη της φωτογραφίας αποτελεί πολύτιμο επιβοηθητικό μέσο για την ιατροδικαστική επιστήμη, ενώ μετά το 1850 άρχισε να χρησιμοποιείται και στις δικαστικές αίθουσες (Robinson 2010). Μερικές δεκαετίες αργότερα, στα τέλη του ίδιου αιώνα, ο Francis Galton προτείνει τη χρήση των *δακτυλικών αποτυπωμάτων*, μία ρηξικέλευθη μέθοδο για την ταυτοποίηση ατόμων που χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα. Με την ανατολή του 20ου αιώνα, ακολούθησε η ανακάλυψη του συστήματος ABO των ομάδων αίματος και η χρήση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA στην προσπάθεια ταυτοποίησης υπόπτων και όχι μόνο (Dumache και συν. 2016).

Είναι βέβαια γεγονός, πως μέχρι το 1986, οπότε και οι τεχνικές ανάλυσης του γενετικού υλικού εισάγονται στην ιατροδικαστική συνεπικουρώντας τις μέχρι τότε υφιστάμενες, τα μέσα διαλεύκανσης αξιόποινων πράξεων ήταν μάλλον πενιχρά και ανεπαρκή, ενώ η εξιχνίαση ενός εγκλήματος βασιζόταν κυρίως στην ικανότητα εκείνου που χειριζόταν την υπόθεση να αξιοποιήσει σωστά τα στοιχεία παρά στα ίδια τα στοιχεία. Η δημιουργία ατομικού *γενετικού αποτυπώματος* άρχισε να μελετάται για πρώτη φορά το 1984, από τον γενετιστή Alec Jeffreys στο πανεπιστήμιο του Leicester του Ηνωμένου Βασιλείου, ο οποίος παρατήρησε ότι κάθε άτομο διαθέτει διαφορετικό συνδυασμό υψηλά πολυμορφικών θέσεων του DNA που δεν συμβάλλουν στην λειτουργία των γονιδίων. Η αστυνομία απευθύνθηκε σε εκείνον το 1986 για την διαλεύκανση ενός βιασμού μετά φόνο και, ο Jeffreys αποκάλυψε ότι τα δείγματα του συλληφθέντος και του τόπου του εγκλήματος δεν ταυτίζονταν. Ο πραγματικός ένοχος αποκαλύφθηκε μετά από δειγματοληπτικό έλεγχο και ανάλυση του DNA σε χιλιάδες πρόσωπα της περιοχής (Henry Arnaud 2017; Dumache και συν. 2016).

Πέραν της σύλληψης δραστών βιασμών ή φόνων, η δημιουργία **γενετικού προφίλ** συμβάλλει στην αναγνώριση αγνοούμενων ή/και θυμάτων συνεπεία κάποιας φυσικής καταστροφής ή δυστυχήματος όταν αυτό συγκρίνεται με δείγμα από προσωπικά αντικείμενα ή συγγενείς τους. Επίσης το γενετικό προφίλ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έλεγχο πατρότητας ή μητρότητας και εύρεση προγονικών σχέσεων και γεωγραφικής καταγωγής. Εξίσου σημαντικό είναι το γεγονός ότι από την ανάλυση του DNA δεν προκύπτει μόνο ταυτοποίηση ενός δράστη αλλά και ο

αποκλεισμός ενός ατόμου ως υπόπτου και συναφώς η απαλλαγή του από τις κατηγορίες που του αποδίδονται (Dumache και συν. 2016).

Εξυπακούεται ότι, ακόμη και η διαδικασία ανάλυσης ενός δείγματος ιατροδικαστικού ενδιαφέροντος διαφέρει ουσιωδώς σε σχέση με σήμερα. Πριν 35 χρόνια, για την δημιουργία γενετικού προφίλ, το απομονωμένο δείγμα DNA υφίστατο πέψη σε συγκεκριμένες θέσεις με περιοριστικά ένζυμα κι έπειτα ανάλυση με Southern blot, δηλαδή διαχωρισμό των τμημάτων DNA σε gel αгарόζης, υβριδοποίηση με ειδικούς ανιχνευτές και εμφάνιση του αποτελέσματος σε φιλμ (Jeffreys και συν. 1985). Ωστόσο, αυτές οι τεχνικές απαιτούσαν μεγάλη ποσότητα και καλή ποιότητα γενετικού υλικού, πράγμα σπάνιο είτε σε περίπτωση εγκλήματος είτε αναγνώρισης θυμάτων. Μετά την ανακάλυψη της PCR, οι διαδικασίες διευκολύνθηκαν, καθώς κατέστη εφικτός ο πολλαπλασιασμός κατατμημένων και μικρής ποσότητας δειγμάτων DNA (Kowalczyk και συν. 2018). Η ανάπτυξη τεχνικών αλληλούχισης αποτελεί με τη σειρά της καινοτόμο εργαλείο για την ιατροδικαστική έρευνα. Η εφαρμογή της τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης (CE) σε συνδυασμό με την αλληλούχιση νέα γενιάς (MPS) των τμημάτων μας δίνει σαφώς περισσότερη γενετική πληροφορία και μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για πολύπλοκα δείγματα, αλλά και εξοικονόμηση χρόνου με την ταυτόχρονη ανάλυση πολλών γενετικών δεικτών (Li 2018; Aalbers και συν. 2020).

1.1 Η σημασία των μοριακών δεικτών και των πληθυσμιακών μελετών

Μοριακοί δείκτες

Οι γενετικοί δείκτες διακρίνονται σε 4 κατηγορίες: τους φαινοτυπικούς, τους βιοχημικούς, τους κυτταρολογικούς (των χρωμοσωμάτων) και τους μοριακούς (του DNA) (Li 2018). Η δημιουργία γενετικού αποτυπώματος στα μέσα της δεκαετίας του '80 οφείλεται στην ανάπτυξη μοριακών δεικτών (Kowalczyk και συν. 2018). Πρόκειται για επαναλαμβανόμενα τμήματα DNA με μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ ατόμων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την διάκριση αυτών. Οι μοριακοί δείκτες έχουν το πλεονέκτημα της πολυμορφικότητας, της συνεπικρατούσας έκφρασης και της ευκολίας στον εντοπισμό και την καταγραφή (Τριανταφυλλίδης 2017). Οι πρώτοι υπερπολυμορφικοί δείκτες που αναπτύχθηκαν ήταν οι μινιδоруφόροι VNTRs (διαδοχικές επαναλήψεις ποικίλου αριθμού), ωστόσο σιγά σιγά εγκαταλείφθηκαν εξαιτίας των μεγάλων και συνεχών τμημάτων που απαιτούνταν για την ανάλυση (Kowalczyk και συν. 2018).

Έτσι, το 1994 χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά, για ιατροδικαστικούς σκοπούς, οι μικροδορυφορικοί δείκτες **STRs (Short Tandem Repeats)** (Kimpton και συν. 1994), οι οποίοι συνιστούν το 3% του συνολικού DNA (Lander και συν. 2001). Πρόκειται για

μικρές διαδοχικές και ιδιαίτερα πολυμορφικές αλληλουχίες αυτοσωμικών και φυλοσύνδετων γονιδίων που συνίστανται από μικρά επαναλαμβανόμενα τμήματα 2-6 βάσεων, ο αριθμός των οποίων ποικίλει σε κάθε γενετικό τόπο από άνθρωπο σε άνθρωπο και εντοπίζονται στο βιολογικό υλικό που λαμβάνεται από τον εκάστοτε τόπο του εγκλήματος (Kayser και de Knijff 2011; Marano και συν. 2019; Wyner και συν. 2020). Οι μικροδορυφόροι προτιμήθηκαν από τους μινιδορυφόρους, καθώς είναι βραχύτερες αλληλουχίες και συνεπώς πιο εύχρηστες σε ιατροδικαστικές υποθέσεις (Kowalczyk και συν. 2018). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι δείκτες αυτοί, αν και εμπεριέχονται σε γονίδια, είναι μη κωδικές περιοχές κι έτσι δεν ευθύνονται για γονιδιακές λειτουργίες, παρότι διαρκώς διεξάγονται μελέτες που αποκαλύπτουν συσχέτιση κάποιων STRs με διάφορες ασθένειες και χαρακτηριστικά (σχιζοφρένεια, βίαιη συμπεριφορά, στρες κ.ά.), ιδίως για τα αλληλόμορφα του δείκτη TH01 (Wyner και συν. 2020). Οι δείκτες αυτοί είναι αρκετά αξιόπιστοι στην σύνδεσή τους με κάποιον ύποπτο άμεσα ή εμμέσως από την αξιολόγηση του προφίλ ενός συγγενικού προσώπου, καθώς τα μοτίβα τους είναι χαρακτηριστικά για κάθε άτομο και προέρχονται από γονεϊκή κληρονομία (Kayser και de Knijff 2011).

Για να καθοριστεί ο αριθμός των επαναλήψεων σε κάθε δείκτη, το γενετικό υλικό από σωματικά υγρά, ιστούς ή αίμα απομονώνεται και ενισχύεται με τη βοήθεια της PCR και γίνεται διαχωρισμός των δεικτών με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση (Butler 2012). Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με υπάρχουσες βάσεις δεδομένων των υπόπτων που διατηρεί στο αρχείο της η αστυνομία ή με άλλες εθνικές βάσεις δεδομένων. Σε περίπτωση που ένας δείκτης που είναι αποτέλεσμα μη τυχαίας παραλλαγής σχετίζεται ισχυρά με ένα δεδομένο χαρακτηριστικό και απαντάται σε μεγάλο μέρος του πληθυσμού, τότε η σημασία του σε επίπεδο πρόβλεψης είναι σημαντική (Kayser και Schneider 2009). Ουσιαστικά, όσο περισσότεροι δείκτες STRs αναλύονται, τόσο μειώνεται η πιθανότητα ένα συγκεκριμένο γενετικό προφίλ να ταυτίζεται με ένα άλλο, μη σχετιζόμενο άτομο (Kowalczyk και συν. 2018). Σπάνια περιλαμβάνεται πάνω από μία περιοχή για κάθε χρωμόσωμα, καθώς οι απομακρυσμένες γενετικές περιοχές, είναι πιθανότερο να κληρονομούνται ανεξάρτητα και συνεπώς οι επαναλήψεις σε αυτές να καθορίζουν ένα σπάνιο γενετικό προφίλ (Butler 2012). Σήμερα, ανάλογα με την εταιρεία και τον σκοπό, χρησιμοποιούνται περίπου 20-30 αυτοσωμικοί και φυλοσύνδετοι δείκτες. Για τον σκοπό αυτό, έχει αναπτυχθεί η PCR πολλαπλών εκκινήτων (multiplex PCR), κατά την οποία εκτελείται ταυτόχρονη ενίσχυση πολλών διαφορετικών τμημάτων DNA (Kowalczyk και συν. 2018).

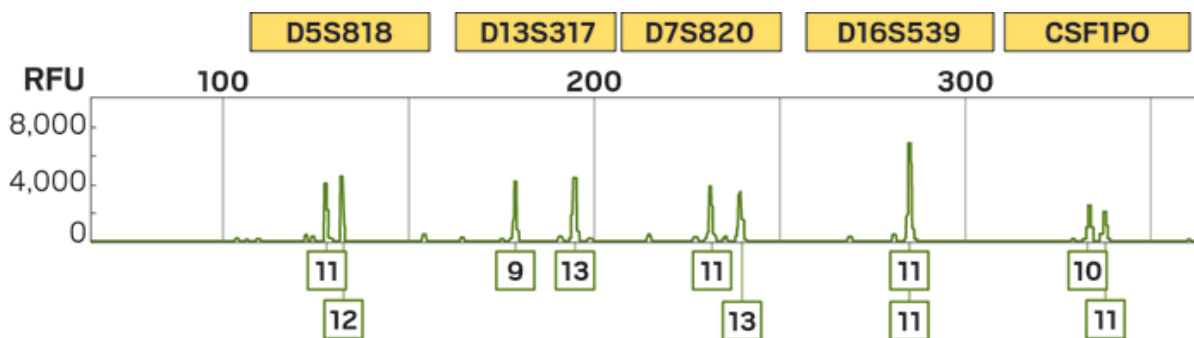
Το πρόβλημα με τους υπάρχοντες ανιχνευτές για STRs στα kit των PCR εντοπίζεται στο ότι αφορούν μεγάλα τμήματα της τάξεως των 200-500 ζευγών βάσεων και σε συνδυασμό με τις επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που διαθέτουν, οδηγεί σε μειωμένη δυνατότητα μεγέθυνσης τμημάτων κατεστραμμένων ή/και λίγων ζευγών

βάσεων (50 ή λιγότερων bp). Συνεπώς, καταβάλλεται διαρκώς προσπάθεια κατασκευής ανιχνευτών μικρότερου μεγέθους. Επιπλέον, ο αριθμός των STRs που χρησιμοποιούνται στα kit είναι σημαντικό να είναι αυξημένος, ώστε να μην οδηγηθούμε σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα (Kayser και de Knijff 2011). Φαίνεται, λοιπόν, πως η χρήση των **SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)** στην ιατροδικαστική έρευνα μπορεί να ξεπεράσει κάποια προβλήματα που προκύπτουν από την ανάλυση των STRs. Επειδή τα SNPs αφορούν πολυμορφισμούς σε μία μόνο θέση, οι ανιχνευτές της PCR μπορούν να είναι αρκετά βραχείς, έτσι ώστε να αυξάνεται και η απόδοσή της ακόμη και για υψηλά καταταμημένα τμήματα και μιτοχονδριακό DNA, τα οποία εντοπίζονται συνήθως στον τόπο του αδικήματος (Butler και συν. 2007; Kayser και de Knijff 2011; Kowalczyk και συν. 2018; Li 2018).

Το μειονέκτημα με τη χρήση των SNPs, έγκειται στο γεγονός ότι, ως λιγότερο πολυμορφικές θέσεις συγκριτικά με τα STRs, αποκαλύπτουν λιγότερες ατομικές πληροφορίες σε περιπτώσεις μειγμάτων DNA. Ένα ακόμη θέμα που προκύπτει, είναι η ανακάλυψη SNPs με παγκόσμια εφαρμογή, δηλαδή τέτοιων ώστε να συμβάλλουν στην ταυτοποίηση του ατόμου ανεξαρτήτως καταγωγής. Επιπλέον, η δημιουργία νέων βάσεων δεδομένων που θα περιλαμβάνουν SNPs καθίσταται ένα δύσκολο εγχείρημα, διότι οι υπάρχουσες βάσεις που έχουν σχεδιαστεί και οι ισχύουσες νομοθεσίες που έχουν θεσπιστεί αφορούν STRs. Εξαιρέση ίσως αποτελούν χώρες που διατηρούν αποθηκευμένα δείγματα DNA ή εκείνες που ακόμη δεν διαθέτουν βάσεις δεδομένων για ιατροδικαστικούς σκοπούς, όπως και η περίπτωση ταυτοποίησης αγνοουμένων, όπου γίνεται de novo σύγκριση ληφθέντων γενετικών υλικών κάθε φορά με τον πιο κατάλληλο τρόπο (Butler και συν. 2007; Kayser και de Knijff 2011).

Εκτός από τους αυτοσωμικούς δείκτες, ιδιαίτερα χρήσιμοι για την ιατροδικαστική έρευνα είναι οι δείκτες που εδράζονται στα φυλετικά χρωμοσώματα Y (**Y-STRs**) και X (**X-STRs**). Και τούτο διότι, όσον αφορά τους Y-STRs, σε περιπτώσεις όπως αξιόποινες πράξεις σεξουαλικού περιεχομένου, όπου συναντάμε μείγμα γενετικών υλικών, τα αυτοσωμικά STRs δεν είναι τόσο επιτυχημένη μέθοδος, αφού κατά την PCR ευνοείται ο πολλαπλασιασμός του σαφώς περισσότερου ποσοτικά DNA του θύματος. Στην περίπτωση των φυλοσύνδετων αυτών γονιδίων, όμως, η ικανότητα ταυτοποίησης αρσενικών κυττάρων είναι ιδιαίτερα υψηλή, ακόμη κι αν η ποσότητά του στο μείγμα είναι πολύ χαμηλή (Kayser και de Knijff 2011; Kayser 2017; Kowalczyk και συν. 2018). Οι δείκτες Y-STRs, λόγω της χαμηλής συχνότητας μεταλλάξεων, κληρονομούνται αυτούσιοι ως απλότυπος Y από γενιά σε γενιά και συνεπώς είναι κατάλληλοι για την ταυτοποίηση ανδρών με συγγενικές σχέσεις για πολλές γενιές. Χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής αποτελούν και τα τεστ πατρότητας όταν ο υποτιθέμενος πατέρας έχει αποβιώσει (Kayser 2017). Το πρόβλημα με τους Y-STRs είναι ότι εξαιτίας ακριβώς αυτής της χαμηλής συχνότητας μεταλλαξένεσης, η διακριτική τους

ικανότητα είναι μικρή όσον αφορά αρσενικά πρόσωπα της ίδιας πατρικής γραμμής. Δεδομένου δε και ότι οι βάσεις δεδομένων περιλαμβάνουν δείγματα αγνώστων μεταξύ τους ατόμων, η ταυτοποίηση ενέχει συχνά μεγάλη αβεβαιότητα. Οι προσπάθειες βελτιστοποίησης της μεθόδου αφορούν στην ανακάλυψη και διερεύνηση επιπλέον δεικτών με μεγαλύτερη συχνότητα μεταλλαγμένης ανά γενεά (Rapidly Mutating STRs - RM STRs) και στην δημιουργία βάσεων δεδομένων με τυχαία δείγματα ανδρών με ή χωρίς συγγενικές σχέσεις (Ballantyne και συν. 2010). Οι δείκτες X-STRs βρίσκουν εφαρμογή κυρίως σε περιπτώσεις πατρότητας και δη όταν το τέκνο είναι θηλυκό (Kowalczyk και συν. 2018).



Εικόνα 1: Αποτύπωση της ανάλυσης του γενετικού προφίλ ενός ατόμου σε 5 αυτοσωμικούς δείκτες STR. Ανάλογα με την θέση των κορυφών στο ηλεκτροφερογράφημα, προσδιορίζεται ο αριθμός των επαναλήψεων στα δύο αλληλόμορφα του κάθε δείκτη (Henry Arnaud 2017).

Πληθυσμιακές μελέτες

Η αξιολόγηση της σημαντικότητας των αποτελεσμάτων ταύτισης δύο γενετικών προφίλ βασίζεται σε πληθυσμιακές μελέτες, με τις οποίες διερευνάται η συχνότητα συγκεκριμένων αλληλομόρφων σε έναν ορισμένο πληθυσμό (Kowalczyk και συν. 2018; Aalbers και συν. 2020). Ο υπολογισμός των συχνοτήτων αυτών γίνεται με βάση την ισορροπία των Hardy-Weinberg σύμφωνα με την οποία η γενετική ποικιλομορφία παραμένει σταθερή σε έναν πληθυσμό ανεξαρτήτως της κληρονομικότητας. Η επιλογή γονιδίων και δεικτών που μας παρέχουν τη δυνατότητα διάκρισης μεταξύ ατόμων αλλά κι εκείνων που σχετίζονται με συγκεκριμένα εξωτερικά χαρακτηριστικά ή ασθένειες που καταλήγουν σε έναν χαρακτηριστικό φαινότυπο, γίνεται χάρη σε αυτές τις μελέτες. Οι μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος (GWAS) έχουν το πλεονέκτημα ότι περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό ατόμων και αλληλομόρφων, αποκαλύπτοντας νέα γονίδια και δείκτες, ώστε να μπορεί να γίνει ασφαλής επιλογή, ιδίως όταν τα δείγματα που εξετάζονται προέρχονται από διαφορετικές περιοχές του πλανήτη και από διακριτές μεταξύ τους πληθυσμιακές ομάδες (Kayser και de Knijff 2011).

1.2. Εξιχνίαση με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων και αναζήτησης συγγενικών σχέσεων (familial searching)

Όπως αναφέρθηκε, τα δείγματα DNA που συλλέγονται αφού αναλυθούν, αντιστοιχίζονται με υπάρχοντα γενετικά προφίλ υπόπτων που έχουν ήδη τελέσει τουλάχιστον μία αξιόποινη πράξη, τα οποία συλλέγονται σε ειδικές βάσεις δεδομένων (Kayser και Schneider 2009). Με την ανάπτυξη των δεικτών STRs, διευρύνθηκαν και οι βάσεις δεδομένων που χρησιμοποιούν αυτούς τους δείκτες. Ανάλογα με τη βάση, τα δείγματα που καταχωρούνται περιλαμβάνουν έναν συγκεκριμένο αριθμό STRs. Το πρώτο πακέτο που καθιερώθηκε αφορούσε μόλις 4 δείκτες STRs (Kimpton και συν. 1994). Το πιο διαδεδομένο σύστημα είναι το σύστημα CODIS των ΗΠΑ που καθιέρωσε το FBI το 1998. Στο σύστημα CODIS περιλαμβάνονται βάσεις δεδομένων για κάθε πολιτεία και η εθνική βάση δεδομένων όπου διατηρούνται όλα τα γενετικά προφίλ των εγκληματιών των ΗΠΑ. Οι βασικοί δείκτες που περιλαμβάνονταν αρχικά στο σύστημα ήταν 13, ενώ πρόσφατα ο αριθμός τους ανήλθε στους 20, ώστε τα αποτελέσματα σε περίπτωση ταύτισης ή αποκλεισμού να έχουν μεγαλύτερη βεβαιότητα και στατιστική σημαντικότητα ("Combined DNA Index System (CODIS) | Federal Bureau Of Investigation"). Στην Ευρώπη, το σύστημα που χρησιμοποιείται, υπό την σύσταση του Ευρωπαϊκού Δικτύου Εγκληματολογικών Ινστιτούτων (ENFSI) διαθέτει 12 βασικούς δείκτες (Welch και συν. 2012).

Τα DNA αναφοράς καταχωρούνται στις βάσεις δεδομένων, ως αποτέλεσμα συλλήψεων κακοποιών, είτε ως ανώνυμα δείγματα κάποιας ανεξιχνίαστης υπόθεσης είτε μετά από εθελοντικούς δειγματοληπτικούς ελέγχους στον πληθυσμό (dragnets). Σε περιπτώσεις όπου δεν υπάρχουν καταχωρημένα στοιχεία, ώστε να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα, συχνά διενεργούνται τέτοιοι έλεγχοι, σε μερικές χιλιάδες άτομα της περιοχής όπου διεξήχθη η εγκληματική πράξη. Συνήθως οι ύποπτοι αρνούνται να λάβουν μέρος, ωστόσο δεν είναι οι μόνοι, καθώς πολλοί είναι αρνητικοί στο εγχείρημα εξαιτίας νομικών ζητημάτων προστασίας προσωπικών δεδομένων. Βέβαια, σπάνια χρησιμοποιούνται αυτές οι μέθοδοι πλέον, λόγω βιοηθικών ζητημάτων που εγείρονται αφενός, αλλά και του υψηλού κόστους που απαιτείται σε συνδυασμό με τον μικρό χρόνο που απαιτεί η διαδικασία (Kayser και Schneider 2009; Kayser 2015). Συνεπώς η πορεία μιας υπόθεσης βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στην έκταση, την συνεχή ενημέρωση των βάσεων δεδομένων και φυσικά στην τύχη (Kayser και Schneider 2009).

Μέσω των δειγματοληπτικών ελέγχων, οι δυνατότητες ταυτοποίησης άρχισαν να διευρύνονται, όταν δόθηκε η δυνατότητα συσχέτισης ενός αγνώστου προφίλ με κάποιο καταχωρημένο, σε επίπεδο συγγένειας (**familial searching**) (Kayser 2015; Debus-Sherrill και Field 2018). Η μερική ταυτοποίηση των STRs μέσω του

χρωμοσώματος Y και του μιτοχονδριακού DNA για την πατρική και τη μητρική γραμμή αντίστοιχα, σε συνδυασμό με λογισμικά προγράμματα που χρησιμοποιούν γενετικούς αλγόριθμους για την εύρεση μοτίβων που προμηνύουν συγγενικές σχέσεις, αυξάνουν την αποτελεσματικότητα του εργαλείου αυτού (Debus-Sherrill και Field 2018). Σαφώς, η πρακτική χρησιμότητα των συγγενικών σχέσεων είναι πιο αποτελεσματική σε επαρχιακές περιοχές, όπου συνήθως κατοικούν τα περισσότερα μέλη μιας οικογένειας παρά σε αστικές (Kayser 2015; Kayser 2017), καθώς και σε αρκετά στενούς συγγενείς, δεδομένου του ρυθμού ανασυνδυασμού του DNA σε κάθε γενιά (Kayser 2017).

Ένα από τα πιο ηχηρά παραδείγματα διαλεύκανσης με τη βοήθεια συγγενικών σχέσεων αφορά στην υπόθεση του λεγόμενου “Golden State Killer” στις ΗΠΑ το 2018, ενός κατά συρροήν βιαστή και δολοφόνου που έδρασε τις δεκαετίες του ‘70 και ‘80. Τα περιορισμένα μέσα της εποχής δεν επέτρεψαν την εξιχνίαση της υπόθεσης. Ωστόσο έρευνα σε βάσεις δεδομένων μιας εταιρίας διερεύνησης της καταγωγής αποκάλυψε συγγενικές σχέσεις μεταξύ του δείγματος από τον τόπο του εγκλήματος και δύο γενετικών προφίλ. Έτσι, μετά από ενδελεχή αναζήτηση στην περιοχή, έγινε πλήρης ταυτοποίηση και σύλληψη του ενόχου έπειτα από δεκαετίες. Η συγκεκριμένη υπόθεση αποτελεί μεγάλο επιστημονικό επίτευγμα αλλά εγείρει και αρκετούς ηθικούς προβληματισμούς. Η εξαγωγή γενετικών δεδομένων από ανυποψίαστα άτομα και η χρησιμοποίησή τους για διαφορετικούς σκοπούς από εκείνους που είχαν συναινέσει αποτελεί έναν από αυτούς (Arnold 2020). Αλλά ακόμη και η εμπλοκή ανυποψίαστων πολιτών ή κοινωνικών ομάδων με την αστυνομία, προκαλεί γενικευμένη καχυποψία και δυσφορία. Γι’ αυτόν τον λόγο, το DNA familial searching εξακολουθεί να μην τυγχάνει γενικευμένης αποδοχής αλλά ούτε και νομικής υποστήριξης από πολλά κράτη (Debus-Sherrill και Field 2018).

1.3. Η συμβολή της επιγενετικής

Ως συμπληρωματική ή εναλλακτική μέθοδος της ανάλυσης STRs έχει μελετηθεί η ανάλυση επιγενετικών δεικτών του DNA, σε περιπτώσεις όπου το δείγμα αναφοράς απουσιάζει (Vidaki και συν. 2017a). Οι επιγενετικές αλλαγές του γονιδιώματος, όπως η μεθυλίωση του DNA στην κυτοσίνη των νησίδων CpG με προσανατολισμό 5’--> 3’ και οι μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών, είναι κληρονομικές αλλαγές που δεν επηρεάζουν την αλληλουχία του DNA. Παρά ταύτα, μπορούν να γίνουν φαινοτυπικά ορατές, ενώ επηρεάζουν τόσο την ανάπτυξη όσο και την έκφραση γονιδίων (Sabeeha και Hasnain 2019), καθώς ένα συντριπτικά μεγάλο ποσοστό επιγενετικών θέσεων που σχετίζονται με την ηλικία βρίσκεται κοντά στην περιοχή μεταγραφής σχετικών γονιδίων (Vidaki και συν. 2017a).

Η μεθυλίωση του DNA προτιμάται ως εργαλείο για την *in vitro* σταθερότητά της και την ικανότητα εξαγωγής αποτελεσμάτων με μικρή αρχική ποσότητα DNA και φαίνεται πως επηρεάζεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής από εξωγενείς παράγοντες, όπως η διατροφή, το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ, η άσκηση, το γήρας κ.ά. Το ατομικό προφίλ μεθυλίωσης είναι ικανό για τον διαχωρισμό κυτταρικών τύπων και ιστών, την εκτίμηση της ηλικίας, ακόμη και ταυτοποίηση μονοζυγωτικών διδύμων (Sabeeha και Hasnain 2019). Μέχρι πρότινος, η *εκτίμηση της ηλικίας* στηριζόταν σε σκελετικά μέρη, όπως κόκκαλα και δόντια, ωστόσο οι μοριακές μέθοδοι επιτρέπουν την ανάλυση μεγαλύτερου εύρους δειγμάτων (Zubakov και συν. 2016). Η μεθυλίωση του DNA συμμετέχει στην κυτταρική διαφοροποίηση και στην γήρανση και παρατηρείται μείωσή της με το πέρασμα των χρόνων. Ειδικότερα, αλλαγές στα επιγενετικά μοτίβα μεθυλίωσης παρατηρούνται από τους πρώτους μήνες ζωής και κατά την παιδική ηλικία (Vidaki και συν. 2017a). Η ανάλυση δεικτών μεθυλίωσης του DNA φαίνεται να αποδίδει καλύτερα αποτελέσματα στην πρόβλεψη της ηλικίας μεταξύ άλλων μεθόδων, όπως η ανάλυση βιοδεικτών mRNA, η μείωση του μεγέθους των τελομερών στα χρωμοσώματα και η ποσοτικοποίηση μεταλλάξεων του μιτοχονδριακού DNA και κάποιων αναδιατάξεων στο DNA των T-λεμφοκυττάρων, το σύνολο των οποίων σχετίζεται με την αύξηση της ηλικίας. Ωστόσο η ανάλυση βιοδεικτών mRNA μπορεί να παράσχει επιπλέον ανεξάρτητες πληροφορίες για την ηλικία όταν συνδυαστεί με τη μεθυλίωση, όπως φυλετικές διαφοροποιήσεις (Zubakov και συν. 2016). Εκτός της ηλικίας, το προφίλ μεθυλίωσης έχει φανερώσει ισχυρή συσχέτιση και στην βελτίωση της πρόβλεψη του δείκτη μάζας σώματος BMI σε σχέση με το γενετικό προφίλ (Shah και συν. 2015).

Βέβαια, παρότι καταβάλλονται προσπάθειες βελτίωσης, η μέθοδος του επιγενετικού αποτυπώματος έχει το μειονέκτημα ότι απαιτεί μεγάλης ποσότητας και καλής ποιότητας γενετικό υλικό (Zubakov και συν. 2016; Vidaki και συν. 2017a; Sabeeha και Hasnain 2019). Η αλληλούχιση νέας γενιάς NGS βοήθησε στην ταυτόχρονη ανάλυση πολλαπλών επιγενετικών δεικτών, οι οποίοι ταυτοποιούνται κυρίως από μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος. Συγκεκριμένα, φαίνεται πως από κάθε ιστό και είδος σωματικού υγρού προκύπτει διαφορετικό μοτίβο μεθυλίωσης που μπορεί να συσχετισθεί με την ηλικία. Οι μελέτες που διεξάγονται αποσκοπούν στην ανακάλυψη νέων, περισσότερο πληροφοριακών, για την ηλικία νησίδων CpG, με σκοπό τη μείωση του ηλικιακού εύρους πρόβλεψης. Η κύρια πηγή των δειγμάτων αφορά σε ολικό αίμα και αίμα με μορφή κηλίδας, αλλά γίνονται προσπάθειες βελτίωσης των μεθόδων και σε άλλα σωματικά υγρά που απαντώνται εξίσου συχνά στον τόπο του εγκλήματος (σάλιο, σπέρμα κλπ.) (Vidaki και συν. 2017a). Μέχρι στιγμής οι ηλικιακές προβλέψεις που γίνονται σε δείγματα αίματος είναι αρκετά ακριβείς και αφορούν ένα πλαίσιο της τάξεως των 10 ετών, ωστόσο, με την

ανακάλυψη νέων πληροφοριακών θέσεων μεθυλίωσης, μελέτες έχουν δείξει ότι είναι εφικτή η πρόβλεψη ακόμα και με διακύμανση κάτω των 5 ετών (Zubakov και συν. 2016; Vidaki και συν. 2017a).

Παρά το γεγονός ότι τα μονοζυγωτικά δίδυμα μπορούν να ταυτοποιηθούν μέσω των δακτυλικών τους αποτυπωμάτων, εντούτοις, μοιράζονται ακριβώς την ίδια αλληλουχία DNA (Jain, Prabhakar και Pankanti 2002). Συνεπώς, η επιγενετική ίσως είναι κι ένα ισχυρό όπλο για την ταυτοποίηση γενετικών υλικών που ανήκουν σε μονοζυγωτικά δίδυμα, βασιζόμενοι στις αλλαγές των προτύπων μεθυλίωσης κατά τη διάρκεια της ζωής, τα οποία μπορούν να διαφοροποιηθούν ακόμη και σε αυτά τα άτομα (Vidaki και συν. 2017b). Επιπλέον, για την πρόβλεψη του ηλικιακού εύρους σε αρσενικά άτομα, οι θέσεις μεθυλίωσης CpG στο χρωμόσωμα Y σε δείγμα αίματος, φαίνεται πως είναι ιδιαίτερος αξιόπιστες σε σχέση με τις αντίστοιχες αυτοσωμικές (Vidaki και συν. 2021). Πάντως, παρά την βελτιστοποίηση των μεθόδων ταυτόχρονης αλληλούχισης με σχετικά μικρή αρχική ποσότητα DNA και την ανακάλυψη πλήθους CpG θέσεων, χρειάζονται περισσότερες μελέτες σε μεγαλύτερο δείγμα ατόμων εκτός του αίματος για την ανάπτυξη ηλικιακών δεικτών συγκεκριμένων για κάθε ιστό, καθώς η αξιοπιστία των προβλέψεων μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας (Zubakov και συν. 2016; Vidaki και συν. 2017a; Vidaki και συν. 2017b).

2. DNA phenotyping: εξαγωγή συμπερασμάτων για τον φαινότυπο με ανάλυση του γονότυπου

Το πρόβλημα με τις κυρίαρχες μεθόδους που εφαρμόζονται είναι ότι η εξιχνίαση απαιτεί ένα σαφές γνωστικό υπόβαθρο που προέρχεται από τις βάσεις δεδομένων και αποσκοπεί στη σύγκριση του άγνωστου προφίλ με τα υπάρχοντα προφίλ αναφοράς με την ελπίδα να προκύψει η ταυτοποίηση. Η μέθοδος του *DNA phenotyping* ή FDP (Forensic DNA Phenotyping) εισήχθη ως μοναδικό εργαλείο εξιχνίασης υποθέσεων που παραμένουν εκκρεμείς στα αρχεία της αστυνομίας -των λεγόμενων cold cases-, που μπορεί να αφορούν υπόπτους ή αγνοούμενους, ή και νέων για τις οποίες δεν υπάρχουν ενισχυτικά στοιχεία σε βάσεις δεδομένων. Πρόκειται για μια καινοτόμο μέθοδο που επιτρέπει την πρόβλεψη συγκεκριμένων ορατών εξωτερικών χαρακτηριστικών κάποιου ατόμου (EVCs) -όπως χρώμα μαλλιών, ματιών και δέρματος- με ποιοτική ανάλυση γνωστών μοριακών δεικτών από το δείγμα γενετικού υλικού που λαμβάνεται από τον τόπο του εγκλήματος και θεωρείται γενικότερα ως ένας αξιόπιστος “αυτόπτης μάρτυρας” (Kayser και Schneider 2009; Kayser 2015; Schneider, Prainsack και Kayser 2019).

Ως μέρος του DNA phenotyping, εκτός των EVCs, λογίζεται και η εξαγωγή πληροφοριών γύρω από την *βιογεωγραφική καταγωγή* ενός ατόμου, δηλαδή την

γεωγραφική καταγωγή των προγόνων του. Για τον σκοπό αυτό εξετάζονται πληροφοριακοί για την καταγωγή δείκτες (Ancestry informative markers - AIMs), οι οποίοι διαφοροποιούνται γενετικώς μεταξύ του λόγω της απόστασης μεταξύ δύο περιοχών, των μεταλλάξεων, της μετανάστευσης, τη γενετικής απομόνωσης κλπ. (Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Παρόλα αυτά, η καταγωγή καθαυτή δεν μπορεί να είναι καθοριστική για ένα φαινοτυπικό χαρακτηριστικό, ειδικά όταν το άτομο προέρχεται από γονείς διαφορετικών εθνοτήτων, γι' αυτό είναι πολύ σημαντική η σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από κάθε ανάλυση (Kayser 2015).

Η χρήση εργαλείων πρόβλεψης εξωτερικών χαρακτηριστικών μέσω του γενετικού υλικού άρχισε να μελετάται ήδη από τις αρχές του 2000 (Kayser 2015) και μέχρι στιγμής πλήθος SNPs έχουν συσχετισθεί με χαρακτηριστικά όπως το χρώμα του δέρματος και των ματιών, τα σγουρά και ίσια μαλλιά, την εθνικότητα, τον μεταβολισμό του αλκοόλ αλλά και τον ιδιαίτερο φαινότυπο πολλών ασθενειών (Li 2018). Το πρόβλημα με τα EVCs είναι ότι μπορούν εύκολα να παραποιηθούν με τη χρήση φακών επαφής, με το βάψιμο των μαλλιών και γενικά τη χρήση καλλυντικών ακόμη και με χειρουργικές επεμβάσεις. Ωστόσο, σε περίπτωση μεταμφίεσης, αυτή παρατηρείται για μικρό χρονικό διάστημα, στην αρχή των ερευνών, ενώ και τα αστυνομικά έγγραφα θα πρέπει να πλαστογραφηθούν. Επιπλέον, η πολυπλοκότητα των EVCs σε επίπεδο γονιδιακό αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για την ταχεία πρόοδο στον τομέα. Η πολυπλοκότητα αυτή, έγκειται συνήθως στην ύπαρξη πλήθους γονιδίων που καθορίζουν έναν φαινότυπο, καθένα από τα οποία συνεισφέρει ελάχιστα, γεγονός που καθιστά την πρόβλεψη του φαινοτύπου σχεδόν αδύνατη, τουλάχιστον με τα υπάρχοντα εργαλεία. Συν τοις άλλοις, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, αν και επιδρώντας λιγότερο από τα γονίδια, όταν συμμετέχουν στον καθορισμό ενός φαινοτύπου δυσχεραίνουν την ταυτοποίησή του. Η ακρίβεια μιας πρόβλεψης βέβαια, μπορεί να επηρεαστεί και από τη στατιστική μέθοδο που χρησιμοποιείται όπως και το μέγεθος των διαθέσιμων δεδομένων που συγκεντρώνονται συνήθως από τις μελέτες GWAS (Kayser 2015).

Βασικό παραμένει και το πρόβλημα λήψης μερικών και ανεπαρκών προφίλ, ένα φαινόμενο συχνό δεδομένης της μικρής ποσότητας και κακής ποιότητας DNA που είναι συνήθως διαθέσιμο, αλλά και τα μείγματα γενετικών υλικών (Walsh και συν. 2014). Το DNA phenotyping μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε δείγματα που προέρχονται από ένα άτομο, ωστόσο αντιμετωπίζει δυσκολίες σε μείγματα περισσότερων ατόμων (Schneider, Prainsack και Kayser 2019; Ralf και Kayser 2021). Όπως αναφέρθηκε, οι δείκτες SNP δεν είναι αποτελεσματικοί όσο οι STRs στις περιπτώσεις αυτές και τούτο διότι είναι μεγάλη η πιθανότητα ύπαρξης του ίδιου αλληλομόρφου στην ίδια θέση στα προφίλ των ατόμων που συμμετέχουν στο μείγμα.

Για τον λόγο αυτό, πριν την εφαρμογή των εργαλείων του DNA phenotyping, όπου απαιτείται η χρήση δεικτών SNP, δημιουργούνται προφίλ με δείκτες STRs (Ralf και Kayser 2021). Χαρακτηριστικό των μειγμάτων κατά την ανάλυση των δεικτών είναι η ανισορροπία των κορυφών των αλληλομόρφων (Chaitanya και συν. 2018). Έχουν πραγματοποιηθεί επιτυχημένες προσπάθειες διάκρισης διαφορετικών γενετικών υλικών ενός δείγματος. Μείγμα γενετικών υλικών δύο ατόμων, εκ των οποίων το ένα αφορούσε γνωστό DNA θύματος και το δεύτερο σε άγνωστο υπόπτου, μελετήθηκε με σκοπό τον διαχωρισμό διαφορετικών γενετικών προφίλ και την σκιαγράφηση του υπόπτου. Πέραν αυτού, στο μείγμα ταυτοποιήθηκε και ζωικό γενετικό υλικό, το οποίο πιθανόν να παράσχει επιπλέον πληροφορίες για τον δράστη, την τοποθεσία κλπ. στις αρμόδιες αρχές. Η επιτυχία του εγχειρήματος έγκειται σε μεγάλο βαθμό στο γεγονός ότι το μείγμα περιείχε γνωστό DNA (του θύματος), ότι υπήρχε ίση αναλογία των DNA κάθε εμπλεκόμενου, η οποία διερευνήθηκε με ποσοτικοποίηση των SNPs με μαζική παράλληλη αλληλούχιση (Ralf και Kayser 2021). Επίσης επιτυχημένος ήταν ο διαχωρισμός μείγματος από τους Breslin και συν. καθώς η μέθοδός τους είναι εφαρμόσιμη σε διαφορετικές αναλογίες συνεισφοράς από το 1:1 και μάλιστα χωρίς κανένα από τα δύο προφίλ να είναι γνωστό (Breslin και συν. 2019). Ωστόσο, υπάρχουν επιπλέον δυσκολίες στον διαχωρισμό των μειγμάτων, σε περιπτώσεις αλληλοεπικάλυψης των αλληλομόρφων των συμβαλλόμενων ατόμων, ιδίως όταν παρουσιάζουν παρόμοια εξωτερικά χαρακτηριστικά (Chaitanya και συν. 2018). Σε κάθε περίπτωση χρειάζεται περισσότερη μελέτη για την αντιμετώπιση των δυσκολιών που ανακύπτουν, με προτιμώτερη την δημιουργία προφίλ STRs με την εφαρμογή τεχνικών παράλληλης αλληλούχισης (Breslin και συν. 2019).

Γι' αυτόν τον λόγο, η ανακάλυψη των κατάλληλων μοριακών δεικτών ενέχει πολλές δυσκολίες. Συνεπώς για την ισχυρή συσχέτιση ενός παράγοντα με ένα εξωτερικό χαρακτηριστικό απαιτείται η εξέταση πολυάριθμων δεικτών. Στην προσπάθεια αυτή συμβάλλουν και οι καινοτομίες γύρω από τις τεχνικές ανάλυσης, όπως η παράλληλη εξέταση έως και 1.000.000 κοινών δεικτών (κυρίως SNPs) με μικροσυστοιχίες (Kayser και Schneider 2009), αλλά πολύ περισσότερο οι μέθοδοι μαζικής παράλληλης αλληλούχισης (MPS) (Liu και συν. 2019). Η επιλογή του κατάλληλου γενετικού δείκτη γίνεται όταν υπάρχει σημαντική διαφορά στη συχνότητα των αλληλομόρφων του μεταξύ ατόμων με διαφορετικές μορφές του ίδιου χαρακτηριστικού (π.χ. μαύρα και ξανθά μαλλιά). Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται η μείωση των πιθανών υπόπτων από όλον τον πληθυσμό σε μια μικρότερη ομάδα αυτού, παρά η εύρεση ενός μοναδικού ατόμου, καθώς το DNA phenotyping είναι περισσότερο ένα εργαλείο που συμβάλλει στην έρευνα παρά ένα μέσο ταυτοποίησης (Kayser και Schneider 2009). Σε κάθε περίπτωση, η πρόβλεψη εξαρτάται από τον βαθμό που οι επιλεγμένοι δείκτες συνεισφέρουν σε έναν συγκεκριμένο φαινότυπο, τον αριθμό αυτών που μελετώνται

αλλά και εξωγενείς παράγοντες. Για μία εγκυρότερη πρόβλεψη, είναι σημαντικό τα χαρακτηριστικά ενδιαφέροντος να καθορίζονται από μικρό αριθμό δεικτών που όμως μας βοηθά να επιτύχουμε υψηλό ποσοστό επιτυχίας. Βέβαια, θα ήταν επισφαλές να ισχυριστούμε ότι έχουν γίνει σημαντικά βήματα προς την κατανόηση του τρόπου με τον οποίο καθορίζεται γενετικά ο φαινότυπος (Kayser και de Knijff 2011).

2.1. Εργαλεία ανάλυσης του γενετικού υλικού με στόχο το DNA phenotyping

Παρά την πολυπλοκότητά τους, τα εξωτερικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με κάποια χρωστική (μάτια, μαλλιά, δέρμα) έχουν τη μεγαλύτερη επιτυχία πρόβλεψης, καθώς είναι λίγα τα γονίδια και οι δείκτες που ευθύνονται για το μεγαλύτερο μέρος της ποικιλομορφίας των χαρακτηριστικών αυτών (Kayser 2015). Η πρόβλεψη του χρώματος ματιών είναι ίσως η πιο ακριβής, γιατί αποτελεί ένα χαρακτηριστικό με υψηλό βαθμό κληρονομησης, δηλαδή επηρεάζεται σε μικρό βαθμό από περιβαλλοντικούς παράγοντες (Kayser και de Knijff 2011). Κατά γενική ομολογία η πρόβλεψη μπλε και καφέ ματιών, κόκκινων και μαύρων μαλλιών αλλά και σκουρόχρωμων επιδερμίδων προβλέπονται με μεγαλύτερη ακρίβεια από οποιαδήποτε άλλη παραλλαγή των χαρακτηριστικών αυτών, στις οποίες περιλαμβάνεται πλήθος μεταβατικών χρωμάτων. Για παράδειγμα, ανάχωμα στην ορθή πρόβλεψη του ξανθού χρώματος μαλλιών αποτελεί το γεγονός ότι σε πολλά άτομα το χρώμα σκουραίνει κατά την ενηλικίωση, με αποτέλεσμα μερικοί από αυτούς να προβλέπονται με ξανθά και άλλοι με σκουρόχρωμα μαλλιά (Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Η ακρίβεια κάθε πρόβλεψης εκφράζεται μετρώντας την τιμή AUC (Area Under the receiver-operating-characteristic Curve) για κάθε χαρακτηριστικό, όπου η απόλυτα εύστοχη πρόβλεψη εκφράζεται με AUC 1, ενώ με AUC 0,5 η πρόβλεψη θεωρείται τυχαία (Walsh και συν. 2011). Η βασική μέθοδος ανάλυσης των SNPs για την ταυτοποίηση των EVCs, όπως και της βιογεωγραφικής καταγωγής ονομάζεται SNaPshot, μία αντίδραση επέκτασης κατά μία βάση (Single-Base Extension), και συνοδεύεται κατά βάση με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση για τον εντοπισμό των SNPs (Mehta και συν. 2016). Για την ευκολότερη μελέτη των τριών βασικών χαρακτηριστικών (χρώμα ματιών, μαλλιών και δέρματος) οι Walsh και συν. το 2011 και το 2013 ανέπτυξαν δύο διαδοχικά εργαλεία που περιλαμβάνουν τους πιο σημαντικούς δείκτες για συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, το σύστημα IrisPlex και HIrisPlex αντίστοιχα, ενώ το 2018 οι Chaitanya και συν. δημιούργησαν το σύστημα HIrisPlex-S.

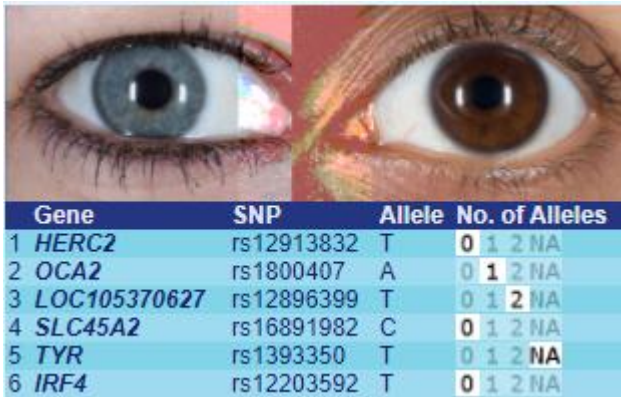
2.1.1. Το σύστημα IrisPlex

Πλήθος μελετών έχει διεξαχθεί για την κατηγοριοποίηση των χρωμάτων της ίριδας μέσα από την συσχέτιση πληθώρας δεικτών SNP με αυτά, υποδεικνύοντας και την πολυμορφικότητα του φαινοτύπου αυτού (Kayser 2015). Το σύστημα IrisPlex αποτελεί ένα καινοτόμο εργαλείο εύκολης και με μεγάλη πιστότητα πρόβλεψης καφέ και μπλε χρώματος ματιών ανεξάρτητα από τη βιογεωγραφική καταγωγή (Walsh και συν. 2011), βασιζόμενο στους 6 περισσότερο πληροφοριακούς για την χρωστική της ίριδας δείκτες SNP: rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350 και rs12203592 που εδράζονται σε 6 διαφορετικά γονίδια, τα *HERC2*, *OCA2*, *SLC24A4*, *SLC45A2 (MATP)*, *TYR* και *IRF4* αντίστοιχα (Εικόνα 2) (Liu και συν. 2009). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε μικρή αρχική ποσότητα DNA (έως και 31pg) και μικρά τμήματα για την PCR, έτσι ώστε να ανταποκρίνεται στους ιατροδικαστικούς σκοπούς για τους οποίους σχεδιάστηκε, δηλαδή υψηλά κατατμημένο και μικρής ποσότητας DNA (Walsh και συν. 2011).

Η χρωστική που καθορίζει το χρώμα της ίριδας των ματιών αφορά στην ποσότητα μελανίνης και αριθμό μελανοσωμάτων στο εξωτερικό στρώμα της ίριδας (Marano και συν. 2019). Το καφέ χρώμα πιθανότατα έχει αρχέγονη καταγωγή και απαντάται σε όλη την Ευρώπη, αν και με μικρότερη συχνότητα στις βόρειες περιοχές της. Τα υπόλοιπα χρώματα φαίνεται πως προήλθαν από την Ευρώπη κατά την πρώιμη εποχή της κι επικράτησαν λόγω επιλογής κατά το ζευγάρωμα, γεγονός που καταδεικνύει τη σημασία της ευρωπαϊκής καταγωγής σε επίπεδο εγκληματολογικής έρευνας (Kayser και Schneider 2009; Walsh και συν. 2011). Το σύστημα βασίστηκε σε μελέτη σε μεγάλο αριθμό ατόμων, ωστόσο όλοι τους προέρχονταν από την Ολλανδία. Γι' αυτό, το IrisPlex εξετάσθηκε σε παγκόσμιους πληθυσμούς, όπου διαπιστώθηκε η εμφάνιση μπλε ματιών μόνο στην περιοχή της Ευρώπης και σπανιότερα στην Μέση ανατολή και δυτική Ασία. Από την άλλη, τα καφέ μάτια προβλέφθηκαν σε όλον τον κόσμο και ιδίως στις περιοχές της ανατολικής Ασίας, Ωκεανίας, υποσαχάριας Αφρικής και των ιθαγενών της Αμερικής, όπου ήταν ο μοναδικός φαινότυπος που παρατηρήθηκε (Walsh και συν. 2011). Περαιτέρω εξακρίβωση έγινε σε άτομα από επτά ευρωπαϊκές χώρες, με τα αποτελέσματα να μην παρουσιάζουν ουσιαστικές αποκλίσεις (Kayser 2015). Σε κάποιους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς έχει παρατηρηθεί η συσχέτιση του φύλου με το χρώμα ματιών. Συγκεκριμένα, στις γυναίκες έχουν παρατηρηθεί με μεγαλύτερη συχνότητα σκούρες αποχρώσεις ματιών απ' ότι στους άνδρες, μια παρατήρηση που σαφώς χρειάζεται περισσότερη διερεύνηση, καθώς δεν έχει βρεθεί ούτε και κάποιος σχετικός δείκτης σε γονίδιο του χρωμοσώματος X που θα εξηγούσε τη διαφοροποίηση αυτή (Kayser 2015; Kukla-Bartoszek και συν. 2018; Marano και συν. 2019).

Από τα γονίδια που συμμετέχουν στην διερεύνηση του φαινοτύπου της ίριδας, τα *OCA2* και *HERC2* που εδράζονται στο χρωμόσωμα 15, φαίνεται να έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά στους μπλε και καφέ φαινοτύπους των ματιών. Το γονίδιο *OCA2* με την παραγωγή της πρωτεΐνης P, εμπλέκεται στη λειτουργία των μελανοσωμάτων, ενώ μετάλλαξη σ' αυτό σχετίζεται με έναν τύπο αλφισμού (Walsh και συν. 2011; Visser, Kayser και Palstra 2012). Ο δείκτης SNP rs12913832, με ίσως την πιο σημαντική συνεισφορά στον καθορισμό των χρωστικών, που εδράζεται σε ιντρόνιο του γονιδίου *HERC2*, φαίνεται πως επηρεάζει αισθητά τα επίπεδα έκφρασης του κοντινού *OCA2*. Συγκεκριμένα, στα σκουρόχρωμα μελανοκύτταρα που φέρουν το αλληλόμορφο T στον δείκτη rs12913832 προσδένονται μεταγραφικοί παράγοντες στην περιοχή αυτή του *HERC2*, οδηγώντας στην δημιουργία ενός χρωματινικού βρόγχου μεταξύ αυτής και του υποκινητή του *OCA2*, ώστε η περιοχή του rs12913832 να λειτουργεί ως ενισχυτής της έκφρασης του *OCA2*. Αντιθέτως, για τα ανοιχτόχρωμα μελανοκύτταρα με το αλληλόμορφο C, μετάλλαξη στην περιοχή πρόσδεσης των μεταγραφικών παραγόντων, οδηγεί σε μειωμένη έκφραση του *OCA2* (Visser, Kayser και Palstra 2012). Σε πρόσφατη μελέτη που επικεντρώνεται στα γονίδια *OCA2-HERC2*, παρουσιάστηκε η σημασία συνδυασμού δεικτών SNPs και STRs στον καθορισμό της χρωστικής της ίριδας. Έτσι, βρέθηκε ότι τα STRs γύρω από τον δείκτη rs12913832 (καταλαμβάνουν περιοχές από το γονίδιο *OCA2* έως το *HERC2*) φαίνεται πως δεν κατανέμονται τυχαία αλλά δημιουργούν απλότυπους που ανάλογα με το αλληλόμορφο C ή T του εκάστοτε δείκτη rs12913832, οδηγούν στην δημιουργία μπλε ή καφέ ματιών. (Για τις προβλέψεις της χρωστικής χρησιμοποιήθηκε το σύστημα IrisPlex) (Suarez, Baumer και Hall 2021).

Η ακρίβεια πρόβλεψης με τη χρήση αυτών των 6 δεικτών είχε ως αποτέλεσμα AUC 0,93 για τα καφέ, 0,91 για τα μπλε και μικρότερο του 0,73 για τις ενδιάμεσες αποχρώσεις. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η σημασία του δείκτη rs12913832 για την πρόβλεψη είναι τέτοια, ώστε μεμονωμένα έδωσε AUC 0,899 για τα καφέ και 0,877 για τα μπλε μάτια, ενώ η προσθήκη των υπόλοιπων 5 δεικτών στην πρόβλεψη αύξησε ελάχιστα την ακρίβεια αυτής (Liu και συν. 2009). Γενικότερα, το σύστημα IrisPlex θεωρείται πλέον ένα εργαλείο υψηλά αξιόπιστο κι εύκολο στην εφαρμογή του για την πρόβλεψη μπλε και καφέ χρώματος ματιών, παρόλα αυτά για τα ενδιάμεσα χρώματα αντιμετωπίζει περιορισμούς (Kayser 2015), είτε λόγω έλλειψης πληροφοριακών γι' αυτά δεικτών είτε εξαιτίας έλλειψης της εκφρασμένης χρωστικής ευμελανίνη (βλ. 2.1.2.) στην ίριδα (Walsh και συν. 2013).



Εικόνα 2: Το εργαλείο IrisPlex παρέχεται αυτοπονημένο για την πρόβλεψη φαινοτύπων σε όσους το επιθυμούν με δυνατότητα προσαρμογής του αριθμού των σπανιότερων αλληλομόρφων για κάθε δείκτη SNP ("HirisPlex-S Eye, Hair And Skin Colour DNA Phenotyping Webtool" 2018).

Εκτός από το εργαλείο IrisPlex, έχουν προταθεί επιπλέον συνδυασμοί μοριακών δεικτών με περισσότερα ή λιγότερα SNPs για την πρόβλεψη του χρώματος ματιών, πολλοί από τους οποίους μάλιστα επιτυγχάνουν ακριβή πρόβλεψη ακόμη και σε αποχρώσεις ενδιάμεσες του μπλε και του καφέ. Το 2011 αναπτύχθηκε επίσης ένα πακέτων 6 δεικτών SNP σε ευρωπαϊκούς και μη ευρωπαϊκούς πληθυσμούς για πρόβλεψη σε καφέ, πράσινο και μπλε χρώμα με αρκετά χαμηλό ποσοστό λάθους (Spichenok και συν. 2011). Η εξέταση του δείκτη rs1129038 του γονιδίου *HERC2* έδειξε βελτίωση τις προβλέψεις πράσινου και μελί χρώματος σε πληθυσμούς της Μέσης ανατολής, δυτικής Ασίας και Αμερικής, όπου το IrisPlex είχε προβλέψει καφέ χρώμα (Freire-Aradas et al. 2014). Οι Ruiz και συν. το 2013 με ένα πακέτο 23 SNPs πέτυχαν επίσης υψηλά ποσοστά ακρίβειας >90% ακόμη και για ενδιάμεσες του μπλε και καφέ αποχρώσεις. Σε μελέτη που κατέδειξε διαγονιδιακές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα γονίδια *HERC2*, *OCA2* και *TYRP1*, η ακρίβεια πρόβλεψης για τα πράσινα μάτια ήταν ελαφρώς αυξημένη (Pośpiech και συν. 2014). Σε κάθε περίπτωση είναι απαραίτητη περισσότερη έρευνα για την βελτίωση των προβλέψεων ενδιάμεσων χρωμάτων του μπλε και του καφέ που ενέχει σαφώς μεγαλύτερη δυσκολία, με την ανακάλυψη περισσότερο πληροφοριακών γενετικών τόπων για τις αποχρώσεις αυτές ή και με την ένταξη άλλων των οποίων η συνεισφορά στον φαινότυπο είναι μικρότερη (Kayser 2015).

2.1.2. Το σύστημα HirisPlex

Σε συνέχεια του IrisPlex, το 2013 παρουσιάστηκε ένα σύστημα πιο εξελιγμένο, το HirisPlex, για την ταυτόχρονη πρόβλεψη δύο τύπων χρωστικών, των ματιών και των μαλλιών. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν 24 δείκτες, εκ των οποίων ο ένας αφορά διαγραφή/εισαγωγή βάσης (INDEL) και οι υπόλοιποι αφορούν SNPs, συμπεριλαμβανομένων και των 6 δεικτών του IrisPlex, ενώ οι 22 από αυτούς χρησιμοποιήθηκαν στο μοντέλο πρόβλεψης του χρώματος και απόχρωσης μαλλιών

(Πίνακας 1). Το εργαλείο αυτό σχεδιάστηκε επίσης για να λαμβάνει υπόψιν το μικρή ποσότητας, έως 63 pg, και ιδιαιτέρως κατατμημένο DNA, έως 160 bp, που ανευρίσκεται συνηθέστερα στον τόπο του αδικήματος (Walsh και συν. 2013). Πράγματι, σε δείγματα αίματος, σάλιου, σπέρματος, τριχών, αλλά και μικρή ποσότητα DNA λόγω επαφής, δημιουργήθηκαν ολοκληρωμένα προφίλ για το 88% των περιπτώσεων και μάλιστα από ανεξάρτητα εργαστήρια ταυτόχρονα (Walsh και συν. 2014). Στο διαδίκτυο, παρέχεται δωρεάν αντίστοιχο εργαλείο του IrisPlex της Εικόνας 2 με τους 24 δείκτες, για εύκολη και άμεση πρόβλεψη ("IrisPlex-S Eye, Hair And Skin Colour DNA Phenotyping Webtool" 2018).

Ένα χρόνο αργότερα από την παρουσίασή του, το σύστημα HirisPlex αξιολογήθηκε και βρέθηκε σύμφωνο με τους κανόνες της Επιστημονικής Ομάδα Εργασίας για την Ανάλυση και τις Μεθόδους του DNA (SWGDM) από άποψη ευαισθησίας και σταθερότητας, ώστε να χρησιμοποιείται με ασφάλεια από τους αρμόδιους για ιατροδικαστικούς σκοπούς. Επιπλέον, αποδείχθηκε ο ανθρωποκεντρικός χαρακτήρας του εργαλείου, δηλαδή η ασυμβατότητα των πληροφοριακών δεικτών με άλλα είδη με πιο σχετικούς εκείνους του χιμπατζή, ενώ και η ακρίβεια των προβλέψεων αυξήθηκε μέσω ενίσχυσης του μεγέθους δείγματος και για τους δύο φαινοτύπους, χρώμα ματιών και μαλλιών (Walsh και συν. 2014).

Γονίδια	Δείκτες
<i>MC1R</i>	Y152OCH, N29insA, rs1805006, rs11547464, rs1805007, rs1805008, rs1805009, rs1805005, rs2228479, rs1110400, rs885479
<i>SLC45A2</i>	rs28777, rs16891982
<i>SLC24A4</i>	rs2402130, rs12896399
<i>EXOC2</i>	rs4959270
<i>IRF4</i>	rs12203592
<i>TYR</i>	rs1042602, rs1393350
<i>TYRP1</i>	rs683
<i>OCA2</i>	rs1800407
<i>HERC2</i>	rs12913832
ASIP/PIGU	rs2378249
<i>KITLG</i>	rs12821256

Πίνακας 1: Τα γονίδια και οι δείκτες του συστήματος HirisPlex. Με μπλε χρώμα παρουσιάζονται οι δείκτες που δεν συμμετέχουν στην πρόβλεψη του χρώματος μαλλιών.

Οι διαφορές στο χρώμα των μαλλιών ευθύνονται σε δύο μορφές μελανίνης, την ευμελανίνη (καφέ/μαύρη) και την φαιομελανίνη (κόκκινο/κίτρινη), ενώ για το ξανθό χρώμα ευθύνεται χαμηλή συγκέντρωση και των δύο μορφών (Valenzuela και συν. 2010; Lee 2021). Η ποικιλομορφία στο χρώμα μαλλιών, όπως και των ματιών, φαίνεται πως προήλθε από την Ευρώπη ως επιλογή κατά το ζευγάρισμα, όπου, μαζί με τις περιοχές της Μέσης ανατολής και Δυτικής Ασίας, διαφοροποιήθηκε το αρχικό μαύρο χρώμα σε 4 βασικές αποχρώσεις: μαύρο, καφέ, ξανθό και κόκκινο. Και το σύστημα HirisPlex έχει χαρακτηριστεί ανεξάρτητο της βιογεωγραφικής καταγωγής παρουσιάζοντας ακριβείς προβλέψεις σε παγκόσμιο επίπεδο χωρίς την ανάγκη διερεύνησης αυτής. Χαρακτηριστικά όπως γαλάζια κι ενδιάμεσα μάτια, κόκκινα, ξανθά και καφέ μαλλιά ενέχουν τουλάχιστον μερικώς ευρωπαϊκή καταγωγή, ωστόσο ο συνδυασμός καφέ ματιών και μαύρων μαλλιών αποτελεί πρόκληση, διότι εμφανίζεται παγκοσμίως. Παρόλα αυτά, προβλέφθηκε με ακρίβεια 86,5% αν έχουν ευρωπαϊκή ή μη ευρωπαϊκή καταγωγή (Walsh και συν. 2013).

Πολλαπλοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο *MC1R*, τουλάχιστον 9, έχουν συσχετισθεί με το κόκκινο χρώμα μαλλιών, χρώμα το οποίο και καθορίζει σχεδόν αποκλειστικά (Kayser και Schneider 2009; Kayser και de Krijff 2011; Liu και συν. 2011). Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου *MC1R* οδηγούν σε πλήρη απώλεια της λειτουργικότητάς του, δηλαδή σε ευαισθησία στις ακτίνες UV του ηλίου, με φαινότυπο ανοιχτόχρωμου δέρματος και κόκκινων μαλλιών. Τα αλληλόμορφα του γονιδίου είναι κατά βάση υπολειπόμενα και αλληλεπιδρούν μέσω του μηχανισμού σύνθετης ετεροζυγωτίας, δηλαδή την ύπαρξη δύο μεταλλαγμένων αλληλομόρφων σε διαφορετικούς SNPs, ένα σε κάθε ομόλογο χρωμόσωμα (Liu και συν. 2011). Η χαμηλή δε συχνότητα των σπάνιων αλληλομόρφων των δεικτών Y152OCH, N29insA, καθιστά τη συνεισφορά τους στο κόκκινο χρώμα ιδιαίτερα υψηλή. Οι δείκτες του *MC1R* περιορίζονται στις περιοχές της Ευρώπης και των πέριξ, αν και υπάρχει μικρή πιθανότητα εμφάνισης των rs885479, rs1805005 και rs2228479 και συνεπώς των κόκκινων μαλλιών και σε άλλες περιοχές (Walsh και συν. 2013). Ιδιαίτερα, φαίνεται πως και το γονίδιο *ASIP* σχετίζεται με τα κόκκινα μαλλιά, ενώ τα γονίδια *SLC24A4*, *KITLG*, *HERC2*, *OCA2*, *TYR*, *MATP*, *TPCN2*, and *IRF4* δηλώνουν διαφορετικό χρώμα μαλλιών (Kayser και Schneider 2009; Kayser και de Krijff 2011). Σε αντίθεση με το χρώμα ματιών, ο δείκτης rs12913832 του *HERC2* δεν φαίνεται πως έχει μεγάλη συνεισφορά στο χρώμα των μαλλιών (Walsh και συν. 2013). Ο δείκτης R93C του γονιδίου *TYRP1* έχει δείξει ισχυρή συσχέτιση για το ξανθό χρώμα μαλλιών στην Ωκεανία, αν και δεν αποτελεί ένα συχνό χαρακτηριστικό για την περιοχή (Kenny και συν. 2012). Ωστόσο, στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς το

ξανθό χρώμα φαίνεται να σχετίζεται με τον πολυμορφισμό rs638 του ίδιου γονιδίου, γι' αυτό και περιλαμβάνεται ο δεύτερος στο σύστημα HirisPlex.

Η εγκυρότητα του HirisPlex εξετάσθηκε σε άτομα τριών ευρωπαϊκών χωρών, από όπου προέκυψαν τα εξής ποσοστά για το χρώμα μαλλιών: 87,5% για μαύρα, 80% για κόκκινα, 78,5% για καφέ και 69,5% για ξανθά μαλλιά (Walsh και συν. 2013). Ο βασικός περιορισμός του HirisPlex, στον οποίο οφείλεται και το χαμηλό ποσοστό πρόβλεψης των ξανθών μαλλιών (69,5%), είναι η τροποποίηση του ξανθού χρώματος σε αποχρώσεις του καφέ, σε μερικά άτομα, κατά την μετάβαση από την παιδική ηλικία προς την ενηλικίωση. Δεδομένου ότι οι δείκτες του HirisPlex δεν αφορούν σε εξαρτώμενους από την ηλικία φαινοτύπους και ότι η μελέτη δεν περιελάμβανε ανήλικα άτομα, αυτού του είδους η αλλαγή χρώματος είναι δύσκολο να γίνει διακριτή. Πράγματι το HirisPlex προέβλεψε ξανθό χρώμα σε 8 άτομα που είχαν υποστεί αυτού του είδους την αλλαγή και στην ουσία διέθεταν από ανοιχτό καφέ έως μαύρο χρώμα (Walsh και συν. 2013). Σε μεταγενέστερη μελέτη, παρατηρήθηκαν μεγαλύτερο ποσοστό λανθασμένων προβλέψεων σε παιδιά 6-13 ετών από ότι σε παιδιά 2-3 ετών, εξαιτίας ψευδώς θετικών ξανθών ή ψευδώς αρνητικών καφέ μαλλιών, γεγονός που αποδεικνύει ότι αυτού του είδους η αλλαγή συμβαίνει ήδη από την παιδική ηλικία. Κατά τα 3 πρώτα χρόνια ζωής φαίνεται πως το χρώμα σταθεροποιείται κι αρχίζει να σκουραίνει, ενώ η μέγιστη λειτουργικότητα της χρωστικής παρατηρείται μετά την εφηβεία. Το φύλο δεν φάνηκε να έχει στατιστικά σημαντικό ρόλο στη μεταβολή αυτή (Kukla-Bartoszek και συν. 2018). Ο μοριακός μηχανισμός με τον οποίο το χρώμα των μαλλιών σκουραίνει παραμένει άγνωστος, αν και έχουν προταθεί ως εξήγηση πιθανές ορμονικές αλλαγές κατά την εφηβεία (Rees 2003) ή η τροποποιημένη έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στη μελανογένεση και προκαλούν αύξηση του περιεχομένου μελανίνης με το πέρας της ηλικίας. Σπάνια είναι πιθανό να παρατηρηθεί η μετατροπή των σκούρων σε ανοιχτόχρωμα μαλλιά, εξαιτίας UV ακτινοβολίας, φαρμάκων, κακής διατροφής κ.α. (Kukla-Bartoszek και συν. 2018).

Στην κατηγορία των εξαρτώμενων από την ηλικία, εμπíπτουν και η απώλεια και το *γκριζάρισμα/άσπρισμα* των μαλλιών με το πέρας αυτής (συνήθως μετά τα 30) (Walsh και συν. 2013). Σε πληθυσμούς της Λατινικής Αμερικής βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση του γονιδίου *IRF4* με το γκριζάρισμα των μαλλιών (Adhikari και συν. 2016a). Το γκριζάρισμα φαίνεται ότι εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η γενετική, η ψυχολογία, η διατροφή και αν και δεν είναι κατανοητός ο μηχανισμός εμφάνισής του, έχουν εντοπισθεί μοτίβα κληρονομίας και καταγωγής. Τα πιθανά μονοπάτια αφορούν στην εξάντληση των μελανοκυττάρων από τους θύλακες της τρίχας, εξαιτίας απορρύθμισης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών, και συνεπώς παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου, κι έκφρασης αντιαποπτωτικών παραγόντων. Επίσης το

γκριζάρισμα μπορεί να οφείλεται στα μη λειτουργικά βλαστοκύτταρα των μελανοσωμάτων εξαιτίας δυσλειτουργίας της απόπτωσης και στην ίδια την ανάπτυξη της τρίχας κατά την οποία μπορεί να προκληθεί οξειδωτικό και γενετοξικό στρες με αποτέλεσμα την εξάντληση των βλαστοκυττάρων των μελανοσωμάτων (O'Sullivan και συν. 2020). Για την ασφαλέστερη ερμηνεία της πρόβλεψης του χρώματος μαλλιών, συνιστάται η παράλληλη εκτίμηση της ηλικίας, ώστε να συνυπολογίζεται η παράμετρος των γκρίζων και αραιών μαλλιών. Τέλος, είναι αναμενόμενο ότι τα βαμμένα μαλλιά αποτελούν ανασταλτικό παράγοντα των προβλέψεων (Walsh και συν. 2013).

Επιπλέον δυσκολία υπήρξε και στον διαχωρισμό των ανοιχτών και σκούρων αποχρώσεων καθемίας από τις 4 κατηγορίες χρωμάτων. Ειδικότερα, τα καφέ μαλλιά ανάλογα με την απόχρωσή τους -ανοιχτό ή σκούρο καφέ- μπορεί να προβλεφθούν ως ξανθά ή μαύρα αντίστοιχα, ενώ παρατηρούνται δυσκολίες ακόμη και στην διάκριση του κόκκινου από το ξανθοκόκκινο. Για τον σκοπό αυτό, δημιουργήθηκε ένας οδηγός ερμηνείας των αποτελεσμάτων πρόβλεψης της απόχρωσης κάθε χρώματος, με βάση την τιμή στατιστικής σημαντικότητας. Με την βοήθεια του οδηγού φαίνεται πως ευνοήθηκε σημαντικά η ακρίβεια πρόβλεψης για τα μαύρα μαλλιά, με συνολικό ποσοστό πρόβλεψης του χρώματος μαλλιών 76% (Walsh και συν. 2013).


Το πρώτο τεστ διερεύνησης της χρωστικής των μαλλιών δημιουργήθηκε ήδη από το 2001, ωστόσο με μικρό μέγεθος δείγματος και πρόβλεψη μόνο για το κόκκινο χρώμα με βάση 12 δείκτες τους γονιδίου *MC1R* (Grimes και συν. 2001). Για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκαν όλες οι κατηγορίες χρωμάτων στις προβλέψεις με 9 δείκτες SNPs και ποσοστό ακρίβειας 70% για τα κόκκινα μαλλιά αλλά χαμηλότερο για τις υπόλοιπες χρωστικές (Sulem και συν. 2007). Σημαντική ήταν και η έρευνα των Venezuela και συν. το 2010 γύρω από την πρόβλεψη των χρωστικών, στην οποία ερμηνεύθηκε το ποσοστό διαφοροποίησης της συνολικής μελανίνης του τριχωτού της κεφαλής (76,3%) μόνο από 3 SNPs: *SLC45A2* (rs16891982), *SLC24A5* (rs1426654) και *HERC2* (rs12913832) (Valenzuela και συν. 2010). Ακόμη έχει επιτευχθεί σε έναν βαθμό διάκριση μεταξύ κοντινών αποχρώσεων όπως τα κόκκινα με τα ξανθοκόκκινα και τα ξανθά με τα καστανόξανθα μαλλιά (Branicki και συν. 2011). Γενικότερα, η πρόβλεψη του χρώματος μαλλιών είναι δυσκολότερη από των ματιών, καθώς, εκτός από τις διαφορετικές αποχρώσεις, υπεισέρχονται και περιβαλλοντικοί και άλλοι παράγοντες εξαρτώμενοι από την ηλικία (Walsh και συν. 2013). Δεδομένων των συνθηκών, επιπλέον μελέτες για την ποσοτική πρόβλεψη του χρώματος των μαλλιών μπορούν να αυξήσουν την ακρίβειά της και πιθανόν να συμβάλλουν στην σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων (Kayser 2015).



Hair	Dark	Light	
	0.839	0.161	
Black 0.631	Brown	Red	Blond
	0.309	0.001	0.059
Eye	Blue	Int.	Brown
	0.058	0.183	0.759

Report: The most probable hair colour of the individual is black/dark brown with an accuracy of 87.5% for the black hair prediction category based on a >300 European test set.


The most probable eye colour is brown with an accuracy of 95% based on a European dataset of >3800 individuals



Hair	Dark	Light	
	0.055	0.945	
Black 0.057	Brown	Red	Blond
	0.152	0.01	0.78
Eye	Blue	Int.	Brown
	0.95	0.03	0.02

Report: The most probable hair colour of the individual is light blond with an accuracy of 69.5% for the blond hair prediction category based on a >300 European test set.

The most probable eye colour is blue with an accuracy of 99% based on a European dataset of >3800 individuals



Hair	Dark	Light	
	0.033	0.967	
Black 0.007	Brown	Red	Blond
	0.077	0.816	0.1
Eye	Blue	Int.	Brown
	0.965	0.027	0.007

Report: The most probable hair colour of the individual is red with an accuracy of 80% for the blond hair prediction category based on a >300 European test set.

The most probable eye colour is blue with an accuracy of 99% based on a European dataset of >3800 individuals

Εικόνα 3: Αναφορά πρόβλεψης με βάση το σύστημα HirisPlex για 3 ενδεικτικούς φαινοτύπους χρώματος ματιών και μαλλιών. Στα δεξιά φαίνεται η ακρίβεια πρόβλεψης κάθε ενός από τα πιθανά χρώματα και αποχρώσεις που περιλαμβάνει πρωτόκολλο του HirisPlex (Walsh και συν. 2013).

2.1.3. Το σύστημα HirisPlex-S

Όπως και με τις προαναφερθείσες χρωστικές, το σκούρο χρώμα δέρματος πιθανότατα αποτελεί ένα αρχέγονο χαρακτηριστικό που συμφωνεί με την υπόθεση καταγωγής από την Αφρική. Τα πιο ανοιχτόχρωμα δέρματα φαίνεται να προήλθαν ως προσαρμογή στην μειωμένη ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας στις βόρειες περιοχές, μακριά από τον ισημερινό (Kayser και Schneider 2009). Γενικότερα, το χρώμα του δέρματος οφείλεται στην ποσότητα και την κατανομή μελανίνης, την ευμελανίνη και τη φαιομελανίνη, οι οποίες παράγονται εντός του κυττάρου σε διαφορετική αναλογία και με τη φαιομελανίνη να είναι πιο επιρρεπής σε βλάβη του δέρματος από την ηλιακή ακτινοβολία. Με το πέρας της ηλικίας, πλήθος παραγόντων ευθύνεται για την πρόκληση βλαβών κατά την παραγωγή των χρωστικών, προκαλώντας μειωμένη παραγωγή μελανίνης (π.χ. μέσω εμφάνισης λευκών δερματικών κηλίδων) (Lee 2021). Οι γνώσεις μας γύρω από την γενετική της χρωστικής του δέρματος είναι πολύ λιγότερες από τις αντίστοιχες των ματιών και των

μαλλιών, καθώς η κατανομή των αλληλομόρφων των πληροφοριακών δεικτών είναι παγκόσμια, επομένως η διερεύνησή τους είναι επιτυχής κυρίως σε ετερογενείς πληθυσμούς. Οι μελέτες GWAS για τους δείκτες που συνδέονται με την χρωστική του δέρματος, αντιμετωπίζουν περιορισμούς σε μη ομοιογενείς πληθυσμούς, αφού η πολυμορφικότητά της είναι έκδηλη σε επίπεδο μεταξύ ηπειρών παρά σε ομάδες εντός αυτών (Kayser και de Krijff 2011; Kayser 2015; Chaitanya και συν. 2018; Marano και συν. 2019). Μελέτες σε ομοιογενείς πληθυσμούς (Ασίας, Αφρικής, ιθαγενείς Αμερικής) δεν μπόρεσαν να διαφοροποιήσουν το χρώμα δέρματος, καταδεικνύοντας την υψηλή γενετική πολυπλοκότητα του χρώματος στο δέρμα (Marano και συν. 2019). Χαρακτηριστικά, σε προαναφερόμενη μελέτη όπου 3 SNPs, rs16891982 (*SLC45A2*), rs1426654 (*SLC24A5*) και rs2424984 (*ASIP*), έδειξαν να συνεισφέρουν σε μεγάλο βαθμό για το χρώμα ματιών και μαλλιών, δεν συνέβη το ίδιο και για το δέρμα, καθώς βρέθηκε συσχέτιση μόνο 47,5% (Valenzuela και συν. 2010) (Το ποσοστό αφορά στην ανακλαστικότητα του δέρματος, δηλαδή το ποσό φωτός που απορροφά και ανακλά το δέρμα ανάλογα με την ποσότητα χρωστικής) (Kayser και de Krijff 2011).

Δεδομένου του κωλύματος αυτού, αναπτύχθηκε το σύστημα HirisPlex-S με το οποίο επετεύχθη η ταυτόχρονη πρόβλεψη των χρωστικών των ματιών, των μαλλιών και του δέρματος, μέσα από συνολικά 41 SNPs (Chaitanya και συν. 2018). Η δημιουργία του HirisPlex-S, ως συνέχεια των δύο προηγούμενων εργαλείων, βασίστηκε σε προηγούμενη μελέτη, στην οποία διερευνήθηκαν 77 πληροφοριακοί πολυμορφισμοί SNPs για το χρώμα του δέρματος σε παγκόσμιο επίπεδο, εκ των οποίων επιλέχθηκαν οι κυρίαρχοι 36 σε 16 γονίδια (Walsh και συν. 2017). Στον καθορισμό του χρώματος του δέρματος συμμετέχουν 19 SNPs από το πακέτο του HirisPlex και 17 νέοι SNPs (Πίνακας 2), οι οποίοι παρέχουν ισχυρή διαφοροποίηση μεταξύ των ηπειρών (Chaitanya και συν. 2018), για τον προσδιορισμό 5 κατηγοριών χρωμάτων: πολύ ανοιχτόχρωμο, ανοιχτόχρωμο, ενδιάμεσο, σκούρο και σκούρο-μαύρο (Walsh και συν. 2017).

Η αποτελεσματικότητα και καταλληλότητα του συστήματος διαπιστώθηκε σε πληθώρα δειγμάτων, όπως αίματος, σπέρματος, σάλιου, κατατμημένου DNA ή μικρή ποσότητα λόγω επαφής, αλλά και δειγμάτων που δεν έχουν επιτυχημένη απόδοση της PCR εξαιτίας περιβαλλοντικών αναστολέων, με αρχικό DNA έως και 63pg και μέγεθος τμημάτων της PCR όχι περισσότερο από 170bp. Βέβαια, σε ποσότητες κάτω των 63pg, έως και 32pg παρατηρήθηκε επιλεκτική ενίσχυση αλληλομόρφων (allelic dropout), αλλά και ανισορροπία στις κορυφές αλληλομόρφων για ετερόζυγους γενετικούς τόπους. Επιπλέον, το HirisPlex-S, όπως και το HirisPlex, είναι επίσης σύμφωνο με τους κανόνες της SWGDAM, διακρίνεται από επαναληψιμότητα μεταξύ ανεξάρτητων εργαστηρίων και την εξειδίκευσή του στο ανθρώπινο γονιδίωμα (Chaitanya και συν. 2018). Με το νέο μοντέλο, οι τιμές AUC που ελήφθησαν για κάθε

κατηγορία χρώματος είναι 0.74 ± 0.05 για το πολύ ανοιχτόχρωμο, 0.72 ± 0.03 για το ανοιχτόχρωμο, 0.73 ± 0.03 για το ενδιάμεσο, 0.87 ± 0.1 για το σκούρο, and 0.97 ± 0.03 για το σκούρο μαύρο (Walsh και συν. 2017). Οι προβλέψεις του HirisPlex-S, με τη βοήθεια των 41 SNPs, είναι κι αυτές διαθέσιμες δωρεάν στο διαδίκτυο ("HirisPlex-S Eye, Hair And Skin Colour DNA Phenotyping Webtool" 2018).

Από τους 17 SNPs, ο δείκτης rs6059655 (*ASIP*) είχε την χαμηλότερη κορυφή στον έλεγχο ευαισθησίας, γεγονός το οποίο τον καθιστά πιθανό υποψήφιο αποκλεισμού σε περίπτωση χαμηλής ποσότητας ή/και κακής ποιότητας γενετικό υλικό (Chaitanya και συν. 2018). Τα γονίδια *MATP*, *ASIP*, *MC1R*, *SLC24A4*, *TYR*, *HERC2*, *IRF4*, *KITLG* που συνδέονται με το χρώμα μαλλιών και ίριδας, φαίνεται να σχετίζονται και με το χρώμα δέρματος όπως και με την ευαισθησία στον ήλιο (Kayser και Schneider 2009). Το *MC1R* μάλιστα, εκτός από το κόκκινο χρώμα μαλλιών, ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για τα ανοιχτόχρωμα δέρματα αλλά και για τις φακίδες (Marano και συν. 2019). Παρόλο που δεν περιλαμβάνεται στο HirisPlex-S, ο δείκτης rs12350739 του γονιδίου *BNC2*, ανάλογα με τα αλληλόμορφα που διαθέτει ρυθμίζει την μεταγραφή του *BNC2* έτσι ώστε να αποδίδεται φαινότυπος δέρματος ανοιχτόχρωμος ή σκουρόχρωμος (Visser, Palstra και Kayser 2014). Επιπλέον, ο δείκτης rs1426654 του *SLC24A5* έχει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των χρωμάτων μεταξύ των ηπειρών, καθώς ευθύνεται για 25-38% των διαφοροποιήσεων μεταξύ Ευρώπης κι Αφρικής (Lamason και συν. 2005). Πρόσφατα, οι δείκτες rs1426654 (*SLC24A5*) και rs1129038 (*HERC2*) αποδείχθηκαν σημαντικότεροι για την διάκριση των Ευρωπαίων, οι rs3212355 (*MC1R*), rs1545397 (*OCA2*) και rs1800414 (*OCA2*) για των Ασιατών και οι rs6119471 (*ASIP*), rs6497292 (*HERC2*), rs1667395 (*HERC2*), rs12441727 (*OCA2*) και rs10756819 (*BNC2*) για των Αφρικανών. Χρωματικά, η κατανομή που ήταν αναμενόμενη και προβλέφθηκε πράγματι από το HirisPlex-S, αφορά σε σκούρο-μαύρο χρώμα στην υποσαχάρια Αφρική και εν μέρη στη Νέα Γουινέα, πολύ ανοιχτόχρωμη, ανοιχτόχρωμη κι ενδιάμεση επιδερμίδα στην Ευρώπη, ενώ οι Ασιάτες διαθέτουν ποικιλία χρωμάτων με εξαίρεση το πολύ ανοιχτόχρωμο δέρμα (Chaitanya και συν. 2018).

Η διακριτική ικανότητα του HirisPlex-S εξετάσθηκε και σε μείγμα γενετικών υλικών δύο ατόμων σε διάφορες αναλογίες. Γενικότερα, για τα προφίλ που συνυπάρχουν σε αναλογία 1:1 είναι δύσκολο να συμπεράνει κανείς αν ανήκουν σε 2 άτομα ή σε ένα ετερόζυγο για συγκεκριμένους δείκτες. Σε διαφορετικές αναλογίες, η ύπαρξη μείγματος είναι πιο ξεκάθαρη δεδομένων των ανισορροπιών στις κορυφές συγκεκριμένων SNPs και στην επιλεκτική ενίσχυση αλληλομόρφων (Chaitanya και συν. 2018).

Γονίδια	Δείκτες
<i>SLC24A5</i>	rs1426654


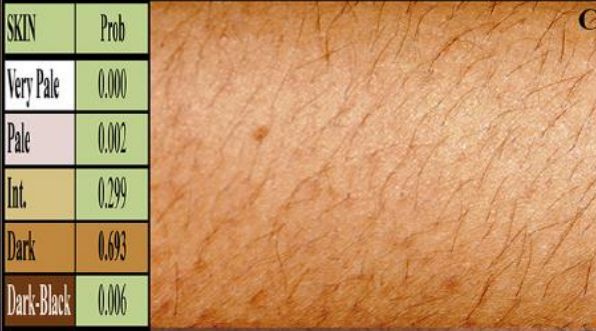


<i>SLC24A4</i>	rs17128291
<i>ANKRD11</i>	rs3114908
<i>BNC2</i>	rs10756819
<i>TYR</i>	rs1126809
<i>RALY</i>	rs6059655
<i>OCA2</i>	rs1800407, rs1470608, rs1545397, rs12441727
<i>HERC2</i>	rs2238289, rs6497292, rs1129038, rs1667394
<i>ASIP</i>	rs6119471
<i>MC1R</i>	rs3212355
<i>DEF8</i>	rs8051733

Πίνακας 2: Οι 17 δείκτες SNPs που χρησιμοποιήθηκαν στο σύστημα HirisPlex-S επιπλέον των 24 του συστήματος HirisPlex για την πρόβλεψη της χρωστικής του δέρματος (Chaitanya και συν. 2018).

Από παλαιότερες μελέτες συσχέτισης του γονοτύπου της χρωστικής του δέρματος με τον φαινότυπο, σημαντική ήταν η συσχέτιση 7 SNPs με άτομα μη σχετικά με κάποια χρωστική, π.χ. μη-λευκό, δηλαδή ανοιχτό καφέ και σκούρο, ωστόσο με μεγάλο ποσοστό αδυναμίας πρόβλεψης (Spichenok και συν. 2011). Μεταγενέστερα, αναγνωρίστηκαν 9 SNPs για πρόβλεψη σε ευρωπαϊκούς και γειτονικούς πληθυσμούς αλλά όχι σε πιο απομακρυσμένες περιοχές (Liu και συν. 2015a). Η πιο εμπειριστατωμένη μελέτη πριν το HirisPlex-S έγινε με έρευνα 59 πληροφοριακών για το χρώμα του δέρματος SNPs σε Ευρωπαίους και Αφρικανούς, από τους οποίους 10 παρείχαν πρόβλεψη μεγαλύτερης ακρίβειας (AUC 0,999 για λευκό, 0,996 για ενδιάμεσο και 0,803 για μαύρο δέρμα), αποτελέσματα τα οποία δεν είχαν μεγάλη αξιοπιστία εξαιτίας του μικρού αριθμού δείγματος (Maroñas et al. 2014).

Και στην περίπτωση του χρώματος δέρματος αναμένεται μελλοντική βελτιστοποίηση των μεθόδων με ποσοτικοποίηση της πρόβλεψης με εκτεταμένη χρήση μεθόδων μαζικής παράλληλης αλληλούχισης (MPS) (Kayser 2015; Chaitanya και συν. 2018). Πράγματι, σε πρόσφατη μελέτη αποδείχθηκε η ικανότητα πρόβλεψης του HirisPlex-S με τη συμβολή τεχνικών μαζικής παράλληλης αλληλούχισης (MPS) πέραν της τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης. Η ικανότητα πρόβλεψης του συστήματος ελέγχθηκε και επαληθεύθηκε για δύο μεθόδους MPS, για την πλατφόρμα Ion Torrent και την MiSeq, για διαφορετικά είδη δειγμάτων (τριχών, αίματος, σάλιου κλπ.), κατεστραμμένο DNA και για την ευαισθησία του στο ανθρώπινο είδος. Παρόλο που χρειάζονται περισσότερες μελέτες ακόμη, διότι η συμβατική μέθοδος της τριχοειδούς

ηλεκτροφόρησης είναι περισσότερη αξιόπιστη σε σχέση με τις MPS, η χρησιμότητά τους στην ιατροδικαστική έρευνα έχει μεγάλη σημασία. Η ταυτόχρονη αλληλούχηση των SNPs δίνει τη δυνατότητα όχι μόνο χρήσης μικρότερης ποσότητας αρχικού DNA, αλλά και μελλοντικής ένταξης επιπλέον δεικτών για περισσότερα του χρώματος ματιών, μαλλιών και δέρματος χαρακτηριστικά και βιογεωγραφική καταγωγή (Breslin και συν. 2019).

SKIN	Prob		A	SKIN	Prob		C
Very Pale	0.389		Very Pale	0.000			
Pale	0.588		Pale	0.002			
Int.	0.023		Int.	0.299			
Dark	0.000		Dark	0.693			
Dark-Black	0.000		Dark-Black	0.006			
SKIN	Prob		B	SKIN	Prob		D
Very Pale	0.020		Very Pale	0.000			
Pale	0.582		Pale	0.000			
Int.	0.398		Int.	0.005			
Dark	0.000		Dark	0.693			
Dark-Black	0.000		Dark-Black	0.301			
EXAMPLE 1: Pale Prediction Similar highest probability for A & B: ~0.58 for Pale However second highest probability influences the colour slightly. In A) Very Pale makes the colour appear lighter In B) Intermediate makes the colour darker (potential tanning ability) although both have the same Pale highest probability prediction.				EXAMPLE 2: Dark Prediction Similar highest probability for C & D: ~0.69 for Dark However second highest probability influences the colour slightly. In C) Intermediate makes the colour appear lighter In D) Dark-to-Black makes the colour darker although both have the same Dark highest probability prediction.			

Εικόνα 4: Δύο παραδείγματα προβλέψεων για ανοιχτόχρωμο και σκούρο δέρμα. Η αμέσως επόμενη από την επικρατέστερη πιθανότητα διαφοροποιεί την κάθε πρόβλεψη, παρόλο που το αρχικό αποτέλεσμα είναι ίδιο για τα A-B και C-D. Συνεπώς στο παράδειγμα 1, το δείγμα A χαρακτηρίζεται ως ανοιχτόχρωμο προς πολύ ανοιχτόχρωμο, ενώ το B ως ανοιχτόχρωμο προς ενδιάμεσο. Αντίστοιχα, στο παράδειγμα 2, το δείγμα C χαρακτηρίζεται ως σκούρο προς ενδιάμεσο, ενώ το D σκούρο προς σκούρο-μαύρο (Chaitanya και συν. 2018).

2.1.4. Πρόβλεψη επιπλέον χαρακτηριστικών

Τα τρία προαναφερθέντα χαρακτηριστικά, χρώμα ματιών, μαλλιών και δέρματος, που ελέγχονται από χρωστικές, είναι τα περισσότερο μελετημένα, λόγω του υψηλού βαθμού κληρονόμησής τους και της υψηλής συνεισφοράς συγκεκριμένου αριθμού γονιδίων στον φαινότυπο. Ωστόσο, η ακριβής πρόβλεψη πλήθους εξωτερικών χαρακτηριστικών, όπως το ανάστημα και η σωματική διάπλαση, τα μορφολογικά στοιχεία του προσώπου και του τριχωτού της κεφαλής κ.α. εμποδίζεται εξαιτίας

δεικτών σπάνιων ή με μικρή συνεισφορά στον φαινότυπο, δομικής παραλλαγής ή φαινομένων επίστασης, δηλαδή αλληλεπίδρασης διαφορετικών γονιδίων για τον καθορισμό ενός φαινοτύπου (Kukla-Bartoszek και συν. 2018). Παρακάτω παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά αυτά που είναι ίσως ο επόμενος στόχος για τη δημιουργία νέων μοντέλων.

Ηλικία

Όπως αναφέρθηκε στην ενότητα **1.3.**, η πιο ακριβής πρόβλεψη της ηλικίας μέχρι στιγμής γίνεται με τη χρήση επιγενετικών μεθόδων και συγκεκριμένα τη μεθυλίωση της κυτοσίνης στις νησίδες CpG στους υποκινητές συγκεκριμένων γονιδίων, βασιζόμενοι στο γεγονός ότι με το πέρασ των ετών συντελούνται αλλαγές στις θέσεις αυτές. Στατιστικά σημαντικοί μέσω της εξέτασης του αίματος, θεωρούνται και οι ηλικιακοί δείκτες sjTRECs, μικρά κυκλικά τμήματα DNA που δημιουργούνται στα T-λεμφοκύτταρα ως παράγωγα κατά την αναδιάταξη στην περιοχή των υποδοχέων των T κυττάρων, καθώς ο αριθμός τους μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας, ενώ δεν επηρεάζονται και από την αποδόμηση του DNA (Kayser και de Knijff 2011; Zubakov και συν. 2016). Βέβαια το πέρασ της ηλικίας επηρεάζει αναπόφευκτα κι άλλα χαρακτηριστικά, όπως η απώλεια και το χρώμα των μαλλιών (Schneider, Prainsack και Kayser 2019).

Ύψος και σωματοδομή

Όσον αφορά το ύψος και γενικά τη σωματοδομή υπάρχει μεγάλη πολυπλοκότητα. Παρά την ισχυρή επίδραση της κληρονομικότητας και παρά την πρόοδο στην ανακάλυψη σχετικών γενετικών δεικτών SNPs -ίσως είναι το χαρακτηριστικό εκείνο για το οποίο διατίθενται οι περισσότεροι δείκτες-, οι δείκτες αυτοί φαίνεται πως έχουν μεμονωμένα μικρή συμμετοχή στην διαμόρφωση αυτής της ποικιλομορφίας, με τον καθένα να συνεισφέρει ελάχιστα σε μήκος, χωρίς να μπορεί να γίνει σαφής φαινοτυπική διάκριση (Kayser και de Knijff 2011). Ειδικότερα, εκτεταμένη μελέτη συσχέτισης που διεξήχθη σε εκατοντάδες χιλιάδες άτομα αποκάλυψε 180 δείκτες, οι οποίοι ευθύνονται μόνο για το 10% της φαινοτυπικής ποικιλομορφίας του ύψους. Περισσότεροι από 100 ήταν ήδη γνωστοί (Lango Allen και συν. 2010). Αργότερα, σε ακόμη πιο εκτεταμένη μελέτη που συμπεριέλαβε περίπου 250.000 άτομα ευρωπαϊκής καταγωγής αναγνωρίστηκαν περίπου 9500 δείκτες, με τους οποίους, ωστόσο, να ευθύνονται μόλις για το ~29% της ποικιλομορφίας του ύψους. Οι περισσότεροι από αυτούς τους δείκτες εδράζονται σε γονίδια που εμπλέκονται σε αναπτυξιακά σηματοδοτικά μονοπάτια, τους αυξητικούς παράγοντες ινοβλαστών και το μονοπάτι WNT/β-κατενίνης, μονοπάτια σχετικά με τη σκελετική ανάπτυξη, όπως το mTOR, και την δέσμευση του υαλουρονικού οξέος (Wood και συν. 2014). Παρόλα

αυτά, στις μελέτες GWAS, οι SNPs μελετώνται μεμονωμένα για το κάθε χαρακτηριστικό, γεγονός που μπορεί να μην λαμβάνει υπόψιν πιθανές αλληλεπιδράσεις που οδηγούν με μεγαλύτερη ισχύ στον καθορισμό του φαινοτύπου. Πράγματι, σε ταυτόχρονη ανάλυση ~300.000 SNPs συνολικά βρέθηκε συσχέτιση με το 45% της ποικιλομορφίας του ύψους (Yang και συν. 2010). Επιπλέον, υπάρχει η πιθανότητα μεγάλη ποσότητα της πληροφορίας που κληρονομείται να βρίσκεται σε πολύ σπάνια και χαμηλής συχνότητας αλληλόμορφα. 83 τέτοιοι δείκτες χαμηλής συχνότητας βρέθηκε πως συνεισφέρουν έως και 2 εκατοστά στον φαινότυπο, δηλαδή 10 φορές περισσότερο από τον μέσο όρο (Marouli et al. 2017).

Η πρόβλεψη του ύψους αφορά κυρίως τις πιο ακραίες εκφάνσεις του. Η πρώτη σχετική μελέτη έγινε το 2009 με 54 δείκτες SNPs σε Ευρωπαίους, ωστόσο το AUC για την πρόβλεψη του ανώτατου 5% των υψηλότερων ατόμων ανήλθε μόλις σε 0,65, ένας αριθμός ελαφρώς πιο ακριβής από την τυχαία πρόβλεψη (Aulchenko και συν. 2009). Οι 180 γενετικοί τόποι των Lango Allen και συν. εξετάστηκαν σε άτομα από την Ολλανδία που διακρίθηκαν σε εξαιρετικά υψηλού και κανονικού αναστήματος. Στην περίπτωση αυτή το AUC ήταν 0,75 για το ψηλό ανάστημα, σαφώς βελτιωμένο από τη μελέτη του 2009. Παρά την πολυπλοκότητά του ως χαρακτηριστικό, έχουν διακριθεί μερικά περισσότερο πληροφοριακά για το ύψος γονίδια, όπως τα *ADAMTS10*, *PCSK5*, *LTBP2*, *EFEMP1*, *PTCH1/FANCC*, *CABLES1*, *NPR3* και *ADAMTSL3* και οι δείκτες rs12048049 (*TGFB2*) και rs10869665 (*PCSK5*) που σχετίζονται ισχυρά με το υψηλό ανάστημα. Παρόμοιο ρόλο έχουν και οι SNPs rs720390 (*IGF2BP2*), rs12534093 (*IGF2BP3*), rs2871865 (*IGF1R*) και rs2665838 (*GH1*) της αυξητικής ορμόνης και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1. Τέλος, ο rs1351394 (*HMGA2*) φαίνεται πως σχετίζεται ισχυρά με το υπερβολικά υψηλό ανάστημα (Liu και συν. 2014). Σε μία πιο επικαιροποιημένη μελέτη σε Ευρωπαίους, όπου χρησιμοποιήθηκαν 689 SNPs, η πρόβλεψη του υψηλού αναστήματος βελτιώθηκε ακόμη περισσότερο, με AUC=0,79. Για την προσαρμογή του μοντέλου σε συνθήκες περισσότερο όμοιες εκείνες του τύπου του αδικήματος, δηλαδή χαμηλής ποσότητας και ποιότητας DNA, επιλέχθηκε μία υποομάδα 419 SNPs, η οποία παρουσίασε ενθαρρυντικά αποτελέσματα πρόβλεψης (AUC= 0,76) (Liu και συν. 2019).

Η προσαρμοσμένη ανάλογα με το φύλο και την ηλικία διακύμανση του ύψους αποδίδεται στην κληρονομικότητα, η οποία εκτιμάται στο 80% (Aulchenko και συν. 2009). Το ύψος μπορεί να επηρεάζεται επίσης από παράγοντες όπως παθολογικούς και ορμονικούς, τη στάση του σώματος, τη διατροφή και γενικά τον τρόπο ζωής (Magano και συν. 2019). Παγκοσμίως, η κατανομή του ύψους παρατηρείται, με αύξουσα σειρά, στην νότια και νοτιοανατολική Ασία (με μέσο όρο για τους άνδρες κάτω από 165 εκ.), ακολουθούν η Αφρική και η κεντρική Αμερική, οι υπόλοιπες περιοχές της Ασίας και Αμερικής, η Ωκεανία και τέλος η Ευρώπη (με Μ.Ο. 180 εκ.)

("Average Height Of Men And Women Worldwide" 2019). Με τις νέες τεχνικές μαζικής παράλληλης αλληλούχισης που εντάσσονται στην ιατροδικαστική έρευνα μέσω του DNA phenotyping, αναμένεται να βελτιωθεί η πρόβλεψη χαρακτηριστικών όπως το ύψος, που εξαρτώνται από πληθώρα δεικτών SNPs (Kayser 2015), ενώ έχει μεγάλη σημασία η αναλυτική διερεύνηση των σχετικών γενετικών περιοχών και των αλληλεπιδράσεών τους (Yang και συν. 2010). Παρόλα αυτά βέβαια, η πολυπλοκότητα του χαρακτηριστικού αυτού, δεν επιτρέπει μέχρι στιγμής την δημιουργία ενός εργαλείου πρόβλεψης αντίστοιχου του HirisPlex-S με την χρήση των λιγότερων δυνατών πληροφοριακών SNPs, καθώς απαιτούνται ακόμη πολλές μελέτες GWA όπως και αλληλουχήσεις ολόκληρων γονιδιωμάτων (Liu και συν. 2019).

Μορφολογικά χαρακτηριστικά του τριχωτού της κεφαλής

Εκτός από το χρώμα των μαλλιών, πλήθος ακόμη ορατών εξωτερικών χαρακτηριστικών του τριχωτού της κεφαλής έχει μελετηθεί και συνεχίζει να μελετάται, όπως η φαλάκρα (επηρεάζεται από το φύλο και την ηλικία), ο τύπος και η πυκνότητα των μαλλιών, χαρακτηριστικά των φρυδιών κλπ.

Η ανδρογενής αλωπεκία αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό χαρακτηριστικό με υψηλό ποσοστό κληρονομικότητας, και ταυτόχρονα λιγότερο πολύπλοκο όσον αφορά την πολυμορφικότητά του. Σε πρόσφατη GWAS, 70.000 ανδρών, αναγνωρίστηκαν 71 δείκτες για το 38% της ποικιλομορφίας της απώλειας μαλλιών (Pirastu και συν. 2017). Η ανδρογενής αλωπεκία, στον βαθμό που έχει μελετηθεί, φαίνεται πως εξαρτάται από τη γενετική προδιάθεση, την απόπτωση και την αρνητική ρύθμιση βλαστοκυττάρων της τρίχας, και ορμονικά από τα ανδρογόνα και συσχετίζεται με παθολογίες όπως καρδιακά και μεταβολικά νοσήματα και καρκίνο του προστάτη (Li και συν. 2012; Marcińska και συν. 2015; Pirastu και συν. 2017), ενώ έχουν αναγνωρισθεί αλληλόμορφα κινδύνου στην χρωμοσωμική περιοχή 17q21.31 που σχετίζονται με την νόσο Πάρκινσον (Li και συν. 2012). Η μεγαλύτερη γενετική πληροφορία για την φαλάκρα προέρχεται από 12 δείκτες σε γονίδια και γενετικούς τόπους: 20p11 (*PAX1/FOXA2*), 7p21.1 (*HDAC9*), 1p36.22, 2q37.3, 7q11.22, 17q21.31, 18q12.3 (Li και συν. 2012), 2q35 (*WNT10A*), 3q25.1 (*SUCNR1*), 5q33.3 (*EBF1*) και 12p12.1 (*SSPN*) (Heilmann και συν. 2013).

Το γονίδιο *AR* που εδράζεται στο χρωμόσωμα X και σχετίζεται με τον υποδοχέα των ανδρογόνων μαζί με το γειτονικό του *EDA2R* αποτελούν την σημαντικότερη περιοχή για την εκδήλωση της ανδρογενούς αλωπεκίας (Prodi και συν. 2008). Η παγκόσμια κατανομή των δεικτών που σχετίζονται με τη φαλάκρα διαφέρει, με την περιοχή 20p11 να ταυτοποιείται ως σχετική σε Ευρώπη και Ασία, ενώ οι SNPs του *AR/EDA2R* να παρουσιάζουν συσχέτιση μόνο στην Ευρώπη (Marcińska και συν. 2015). Η ακρίβεια πρόβλεψης για την εμφάνιση φαλακρας, έχει μελετηθεί αρκετά σε Ευρωπαίους. Σε

άνδρες από 50 ετών και άνω εφαρμόσθηκε πακέτο 20 SNPs με $AUC=0,761$, εκ των οποίων, οι δείκτες των περιοχών *AR*, *20p11*, *EBF1*, *TARDBP* και *HDAC9* αποδίδουν τη μεγαλύτερη ακρίβεια πρόβλεψης της φαλάκρας. Οι 15 επιπλέον SNPs, αν και χαμηλής συσχέτισης, συνέβαλαν στην σημαντική αύξηση του αρχικού ποσοστού (Marcinińska και συν. 2015). Παραπλήσια ήταν και η πρόβλεψη πρώιμης φαλάκρας σε Ευρωπαίους με τη χρήση 14 SNPs ($AUC=0,74$), όμως η πρόβλεψη φυσιολογικής φαλάκρας σε μεσήλικες και ηλικιωμένους ήταν λιγότερο ακριβής ($AUC=0,69-0,71$) (Liu και συν. 2015b). Τέλος, έχει επιτευχθεί διαχωρισμός ατόμων χωρίς σημάδια αλωπεκίας από εκείνα με σοβαρή φαλάκρα με $AUC=0,78$ (Hagenaars και συν. 2017).

Η ενεργή εμπλοκή του χρωμοσώματος X, δηλώνει την κληρονόμηση από πατέρα σε κόρη κι από μητέρα σε γιο. Παρά ταύτα, η απώλεια μαλλιών στις γυναίκες είναι σπανιότατη και δεν φαίνεται να μοιράζεται την ίδια γενετική βάση με εκείνη των ανδρών, εκτός των περιοχών στο χρωμόσωμα X (Nuwaihya και συν. 2013). Τα μέχρι στιγμής ευρήματα γύρω από την απώλεια μαλλιών κατά κύριο λόγο των ανδρών είναι αρκετά εμπειριστατωμένα με ικανοποιητικό αριθμό SNPs και ποσοστά πρόβλεψης, συνεπώς είναι πιθανή η μελλοντική ένταξη και αυτού του χαρακτηριστικού σε επικυρωμένες μεθόδους ιατροδικαστικών αναλύσεων. Ωστόσο είναι απαραίτητες περισσότερες μελέτες, όχι μόνο για την πρόβλεψη πρώιμης έναρξης της φαλάκρας και για να διαπιστωθεί ο λόγος της χαμηλής ακρίβειας πρόβλεψης σε άνδρες κάτω των 50 ετών.

Ο τύπος των μαλλιών αποτελεί επίσης ένα χαρακτηριστικό με υψηλή γενετική βάση και μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των ηπείρων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η υποσαχάρια Αφρική, όπου το γνώρισμα των ίσιων μαλλιών απουσιάζει εντελώς (Adhikari και συν. 2016a). Τα μαλλιά, ανάλογα με τον τύπο τους διακρίνονται σε ίσια, σπαστά/κυματιστά, σγουρά και κατσαρά (Rośpiech και συν. 2018). Στην Ευρώπη, η κατανομή τους ποικίλει αρκετά, με το 45% των κατοίκων της να έχει ίσια, το 40% σπαστά και το 15% σγουρά μαλλιά (Medland και συν. 2009). Το γονίδιο *TCHH* (rs11803731), και λιγότερο ισχυρά τα *WNT10A* (rs7349332) και *FRAS1* (rs1268789), έχουν συσχετισθεί με τα ίσια μαλλιά σε ευρωπαϊκούς πληθυσμούς (Medland και συν. 2009; Rośpiech και συν. 2015), ενώ τα *EDAR* και *FGFR2*, σχετίζεται με τον τύπο και με την πυκνότητα των μαλλιών σε ασιατικούς (Fujimoto και συν. 2009; Tan και συν. 2013). Πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι τον φαινότυπο των ίσιων μαλλιών διευκολύνουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *TCHH* και του *RPTN* (Rośpiech και συν. 2018). Εκτός από τα μαλλιά, το γονίδιο *EDAR* είναι πιθανό να επηρεάζει την πυκνότητα των τριχών σε όλο το σώμα, όπως τα φρύδια και τα γένια (Adhikari και συν. 2016a). Βέβαια, η κατανομή εντός της Ασιατικής ηπείρου είναι αρκετά ομοιόμορφη, συνεπώς δεν είναι ιδιαίτερος χρήσιμο γονίδιο στις αναλύσεις του DNA phenotyping (Kayser 2015). Το σπάνιο αλληλόμορφο T σε SNP του γονιδίου *TCHH* έχει βρεθεί μόνο στην Ευρώπη, την

Μέση ανατολή, τη δυτική Ασία και τη βόρεια Αφρική, χαρακτηρίζοντας τα ίσια μαλλιά στις περιοχές αυτές (Medland και συν. 2009). Επίσης έχει βρεθεί συσχέτιση σε περιοχή του γονιδίου *PRSS53* με τον τύπο μαλλιών σε Λατινοαμερικάνους (Adhikari και συν. 2016a). Σε μελέτη GWAS αναγνωρίστηκαν 8 νέα γονίδια που ωστόσο, εξηγούν μικρό ποσοστό της γενετικής ποικιλομορφίας: 1p36.23 (*ERRFI1/SLC45A1*), 1p36.22 (*PEX14*), 1p36.13 (*PADI3*), 2p13.3 (*TGFA*), 11p14.1 (*LGR4*), 12q13.13 (*HOXC13*), 17q21.2 (*KRTAP*) 20q13.33 (*PTK6*) (Liu και συν. 2017).

Παρά την συλλογή αρκετής γενετικής πληροφορίας για τα ίσια μαλλιά, δεν συμβαίνει το ίδιο για τα σγουρά, για τα οποία έχει εξακριβωθεί ο υψηλός βαθμός κληρονομησης με μελέτες διδύμων (Medland, Zhu και Martin 2009). Πάντως φαίνεται πως τα σγουρά μαλλιά είναι αποτέλεσμα διαφορετικής κατανομής κι έκφρασης των κερατινών και των κυτταρικών τύπων στις ίνες της τρίχας (Medland και συν. 2009). Για τα σγουρά και κατσαρά μαλλιά έχουν αναγνωρισθεί λίγα γονίδια, μεταξύ αυτών τα *LIPH* και *KRT71* που αφορούν βασικά παθολογικούς φαινοτύπους (Rośriech και συν. 2018).

Ένα ακόμη χαρακτηριστικό που διερευνάται είναι το χρώμα και το πάχος των φρυδιών, αλλά ακόμη και το μονό φρύδι, καθώς έχουν διεξαχθεί μελέτες GWA για την αναγνώριση πληροφοριακών δεικτών. Έτσι, εκτός από το *HERC*, τα γονίδια *IGFBP5*, *VDR*, *PAX3*, *TBX* και η περιοχή 5q13.2 παρέχουν πληροφορίες για το μονό φρύδι, το πάχος της τρίχας και την τριχοφυΐα (Rośriech και συν. 2022). Αναφορικά με το χρώμα, πιστεύεται ότι ακολουθεί το ίδιο κληρονομικό μοτίβο με τα μαλλιά του κεφαλιού, παρά το γεγονός ότι συχνά παρατηρούνται διαφοροποιήσεις. Σχετική μελέτη, εκτός από τα γνωστά από το χρώμα μαλλιών γονίδια (*ASIP*, *HERC2*, *MC1R*, *OCA2*, *SLC24A4*, *SLC45A2*) ανέδειξε τον SNP rs11001536 (*C10orf11*) με στατιστικής σημασίας αποτελέσματα μόνο σε μεγαλύτερης ηλικίας άτομα και όχι σε εφήβους. Το αλληλόμορφο G του τόπου αυτού, έδειξε και σημαντική διαφορά ανοιχτόχρωμων και σκουρόχρωμων φρυδιών μεταξύ Ευρωπαίων και Ασιατών αντίστοιχα (Peng και συν. 2019).

Τα μοντέλα πρόβλεψης που αφορούν στον τύπο μαλλιών και φρυδιών είναι περιορισμένα. Συγκεκριμένα, 32 SNPs μπορούν να προβλέψουν τα ίσια ή όχι-ίσια μαλλιά σε Ευρωπαίους με AUC=0,664, ενώ σε μη Ευρωπαίους η πρόβλεψη είναι ακριβέστερη με AUC= 0,789. Ωστόσο το αντιπροσωπευτικό δείγμα των τελευταίων δεν ήταν αρκετά ικανοποιητικό, αν και το γονίδιο *EDAR* έχει σημαντική επίδραση στους μη ευρωπαϊκούς πληθυσμούς. Επιπλέον, οι δείκτες αυτοί μπορούν να δικαιολογήσουν μόνο το 12% της ποικιλομορφίας (Rośriech και συν. 2018). Πρόσφατα μοντέλα πρόβλεψης των χαρακτηριστικών τριχοφυΐας, πυκνότητας τριχών, πάχους τρίχας και μονού φρυδιού δημιουργήθηκαν με στόχο την βελτίωση τεχνικών DNA phenotyping. Με τη χρήση 7 SNPs και λαμβάνοντας υπόψιν την ηλικία

και το φύλο, προβλέφθηκε η μηδενική έως υπερβολική τριχοφυΐα σε γυναίκες με AUC 0,69-0,76 αντίστοιχα και AUC της τάξεως του 0,63-0,64 για την πρόβλεψη των λοιπών χαρακτηριστικών (Pośpiech και συν. 2022). Επιπρόσθετα, μοντέλο πρόβλεψης για το χρώμα φρυδιών, κατ' αντιστοιχία με το HIRISplex, έδωσε αρκετά χαμηλότερο AUC (0,62-0,7) (Peng και συν. 2019).

Μορφολογικά χαρακτηριστικά του προσώπου

Τα επιμέρους χαρακτηριστικά που συνιστούν τη μορφολογία του προσώπου (π.χ. πλάτος ρουθουνιών και χειλιών, απόσταση ματιών, σχήμα χειλιών και πηγουνιού, ύψος προσώπου, το είδος των λοβών των αυτιών και σημάδια όπως οι φακίδες), αποτελούν δυσεπίλυτο γρίφο για τους επιστήμονες και τις αρμόδιες αρχές, δεδομένου του ελάχιστου όγκου πληροφοριών που διατίθενται, με απώτερο στόχο την δημιουργία συγκεκριμένων σκίτσων των υπόπτων, μία πρακτική που εφαρμόζεται ευρέως στην περίπτωση αυτόπτη μάρτυρα. Όντας βέβαια ένα περίπλοκο χαρακτηριστικό - στο οποίο συμβάλλει και η τρισδιάστατη δομή του -, κάθε πολυμορφισμός συμβάλλει ελάχιστα στον φαινότυπο, συνεπώς οι εμπλεκόμενοι γενετικοί δείκτες αναμένονται να είναι πολλοί. Η εξελικτική διαμόρφωση της μορφολογίας του προσώπου πιστεύεται ότι οφείλεται στην περιβαλλοντική προσαρμογή και στην επιλογή συντρόφου (Guo και συν. 2014). Συν τοις άλλοις, ορισμένα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του προσώπου, είναι αποτέλεσμα παθολογικών καταστάσεων, όπως η υπερωισχιστία και η λαγωχειλία (Marano και συν. 2019) ή η εμπλοκή του γονιδίου *PAX3* στις διαφοροποιήσεις της όψης του προσώπου εξαιτίας του συνδρόμου Waardenburg (Paternoster και συν. 2012).

Οι GWAS σε μη ευρωπαϊκούς πληθυσμούς είναι σπάνιες. Ιδιαίτερως σημαντική ήταν η μελέτη συσχέτισης για το σχήμα του προσώπου σε Ευρωπαίους που ταυτοποίησε 5 γονίδια (*PAX3*, *PRDM16*, *TP63*, *C5orf50* και *COL17A1*) σχετικά με τις αποστάσεις των χαρακτηριστικών του προσώπου, οι οποίες μετρήθηκαν μέσω 2D φωτογραφιών και 3D μαγνητικής τομογραφίας. Τα 3 πρώτα γονίδια έχουν αναγνωρισθεί ότι ευθύνονται με την ανάπτυξη του κρανίου του προσώπου, ενώ συγκεκριμένα το *PAX3* ευθύνεται για τη θέση της μύτης στο πρόσωπο (Liu και συν. 2012). Σε μελέτη ανηλίκων, η απόσταση από τη βάση της μύτης μέχρι το μέσο της οφθαλμικής κόγχης, το ύψος και η ύπαρξη προεξοχής στη μύτη σχετίστηκαν με το γονίδιο *PAX3* (Paternoster και συν. 2012). Ο SNP rs17447439 (*TP63*) αποδείχθηκε ότι έχει μεγάλη επίδραση στην απόσταση μεταξύ των ματιών, με τους ομοζυγώτες να έχουν κοντινότερη απόσταση ματιών σε σχέση με τους ετεροζυγώτες (Liu και συν. 2012). Σε μεταγενέστερη μελέτη, τα γονίδια φάνηκαν να σχετίζονται *DCHS2*, *RUNX2*, *GLI3* και *PAX1* με τη μορφολογία της μύτης και το *EDAR* με την προεξοχή του πηγουνιού (Adhikari et al. 2016b). Μερικές μελέτες συσχέτισης έχουν

πραγματοποιηθεί και για τον βαθμό προσκόλλησης του *λοβού των αυτιών*, ως πολυγονιδιακό χαρακτηριστικό, με την αναγνώριση γονιδίων μεταξύ των οποίων τα *EDAR*, *SP5*, *MRPS22*, *ADGRG6*, *KIAA1217* και *PAX9*, ενώ καταγράφονται παγκοσμίως διαφορές στις συχνότητες των αλληλομόρφων (Shaffer και συν.. 2017).

Με την επίδραση του φύλου και της γενετικής καταγωγής κατέστη εφικτός ο σχεδιασμός ενός μέσου βασικού σχήματος προσώπου, όπου εφαρμόστηκαν 24 δείκτες SNPs, οι οποίοι αναγνωρίστηκαν με αξιοσημείωτες διαφοροποιήσεις μεταξύ τριών πληθυσμών, με τα γονίδια *SLC35D1*, *FGFR1* και *LRP6* να έχουν ιδιαίτερη συνεισφορά (Claes, Hill και Shriver 2014). Ωστόσο, στις πρακτικές αυτές έχει ασκηθεί κριτική, για την επιπόλαιη επιλογή γονιδίων ως προς την συμβολή τους στην ποικιλομορφία του σχήματος του προσώπου και για την επισφαλή πρόβλεψη με γνώμονα τόσο πολύπλοκα χαρακτηριστικά (Hallgrímsson και συν. 2014). Με την ανακάλυψη νέων σχετιζόμενων γονιδίων, εφαρμόστηκε μια νέα προσέγγιση φαινοτυπικής πρόβλεψης, με βάση τον διαχωρισμό του προσώπου από γενικά σε επιμέρους τμήματα (Claes και συν. 2018). Αξιολογώντας ασιατικούς πληθυσμούς, οι Qiao και συν. δημιούργησαν ένα βασικό ποσοτικό μοντέλο 3D αναπαράστασης του προσώπου βασισμένο σε πλήθος δεικτών SNP, αποδίδοντας μεγάλο μέρος της μορφολογίας του προσώπου σε φαινόμενα επίστασης (Qiao και συν. 2018). Πρόσφατα, αναπτύχθηκε ένα εργαλείο σύνδεσης των γενετικών πληροφοριών που αφορούν το πρόσωπο με σκοπό τη σύνθεση ενός πιθανού προσώπου. Το εργαλείο αυτό βασίζεται στη αντιστοίχιση προσώπων με γνωστά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά από μία βάση δεδομένων, σε προφίλ DNA, με τη βοήθεια του φύλου, της ηλικίας, του BMI, του γενετικού υπόβαθρου και των SNPs, χωρίς να γίνεται έτσι πρόβλεψη χαρακτηριστικών, αλλά όψεων. Παρά ταύτα, το μοντέλο χρειάζεται αυστηρή αξιολόγηση κι επικαιροποίηση από τους επιστήμονες, καθώς και νομική προσαρμογή κι αξιολόγηση (Sero και συν. 2019). Στην τελευταία δημοσιευμένη μελέτη για τη μορφολογία του προσώπου, βρέθηκαν 62 νέοι σχετικοί δείκτες και αναδείχθηκε η γενετική βάση των διαφορών στα χαρακτηριστικά του προσώπου μεταξύ πληθυσμών της Ευρώπης και Ανατολικής Ασίας (Zhang και συν. 2022).

Μία ακόμη σημαντική κατηγορία ορατών χαρακτηριστικών, αφορά στη συγκέντρωση χρωστικών που έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία κηλίδων στο πρόσωπο. Ως παράγοντες κινδύνου έχουν χαρακτηριστεί η ηλικία, η ηλικιακή ακτινοβολία και το ανοιχτόχρωμο δέρμα. Τα γονίδια *IRF4*, *MC1R*, *RALY/ASIP*, and *BNC2* που σχετίζονται με το χρώμα αλλά και τον καρκίνο του δέρματος, συμμετέχουν και στη δημιουργία κηλίδων του προσώπου, ωστόσο μέσω μονοπατιών ανεξάρτητων εκείνου της παραγωγής μελανίνης. Τα 4 αυτά γονίδια έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά, ερμηνεύοντας το ~5,6% της φαινοτυπικής ποικιλομορφίας. Και στην περίπτωση των κηλίδων του προσώπου, η σύνθετη ετεροζυγωτία που παρατηρείται

εντός του *MC1R* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξή τους, με τους 6 SNPs του γονιδίου να είναι οι κύριοι υπεύθυνοι για το μεγαλύτερο μέρος της ποικιλομορφίας. Ειδικότερα, η γενετική προδιάθεση στις πανάδες του ηλίου οφείλεται μερικώς στα γονίδια *SLC45A2* στους Ασιάτες και *MC1R* στους Ευρωπαίους (Jacobs και συν. 2015).

Οι φακίδες είναι ένα χαρακτηριστικό που απαντάται κυρίως στην Ευρώπη και την Ασία και συνοδεύεται συνήθως από ανοιχτόχρωμο δέρμα και κόκκινα μαλλιά. Η ποσότητα και το χρώμα τους ποικίλει, από κόκκινο έως καφέ, από άνθρωπο σε άνθρωπο (Kukla-Bartoszek και συν. 2019). Οι φακίδες μπορεί να εμφανιστούν κατά την παιδική ηλικία, να αυξηθούν στην εφηβεία και να ελαττωθούν κατά την ενηλικίωση. Επιπρόσθετα, οι γυναίκες φαίνεται πως έχουν μεγαλύτερη προδιάθεση από τους άνδρες στην εμφάνιση φακίδων (Hernando και συν. 2018; Kukla-Bartoszek και συν. 2019). Επίσης είναι πιθανό να πληθύνουν με την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία (Hernando και συν. 2018), παρά ταύτα τη μεγαλύτερη επίδραση ασκούν οι 6 προαναφερθέντες πολυμορφισμοί του γονιδίου *MC1R* (Rees 2003). Ο rs1042602 (*TYR*) (Sulem και συν. 2007) και ο rs2153271 (*BNC2*) σχετίζεται επίσης με τις φακίδες (Eriksson και συν. 2010).

Η πρόβλεψη των φακίδων και η ένταξή της σε αντίστοιχα μοντέλα φαινοτυπικών χαρακτηριστικών θεωρείται ένας εφικτός για το μέλλον στόχος, καθώς έχουν ήδη προταθεί μοντέλα πρόβλεψης. Με βάση το γονίδιο *MC1R* και τη χρήση 8 SNPs των γονιδίων *IRF4*, *ASIP*, *TYR*, *BNC2*, *SLC24A4*, *SLC45A2* και *KITLG*, σε άτομα από την Ισπανία, επετεύχθη ακρίβεια στο ποσοστό πρόβλεψης της τάξεως του 74,13%, ενώ όταν συνυπολογίσθηκε το φύλο, εκείνο ανήλθε στο 76,32%. Εντούτοις η πρόβλεψη φακίδων ήταν ακριβέστερη στην παιδική ηλικία (AUC= 0,804) (Hernando και συν. 2018). Το δεύτερο μοντέλο που αναπτύχθηκε εξετάσθηκε σε Πολωνούς. Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν 12 δείκτες με ακρίβεια πρόβλεψης της ύπαρξης φακίδων 0,752. Έπειτα, με 14 δείκτες έγινε διάκριση ατόμων χωρίς φακίδες (AUC= 0,754) από εκείνα ενδιάμεσης κατάστασης (AUC=0,657) και άτομα με πάρα πολλές φακίδες (AUC= 0,792). Μεταξύ των γονιδίων, τα *MC1R*, *IRF4*, *OCA2*, *BNC2*, *HERC2*, *TYR*, *RALY* και *DEF8*, συμπεριλαμβάνονται και στο μοντέλο πρόβλεψης HIrisPlex-S, καταδεικνύοντας ότι οι φακίδες είναι ίσως το επόμενο χαρακτηριστικό που καθορίζεται από χρωστική και είναι ικανό να ενταχθεί σε κάποιο συλλογικό μοντέλο πρόβλεψης για ιατροδικαστικούς σκοπούς (Kukla-Bartoszek και συν. 2019).

Πρόελευση δειγμάτων, χρόνος και τόπος τέλεσης του εγκλήματος

Ίσως να μην αποτελούν αμιγώς ανθρώπινα εξωτερικά χαρακτηριστικά, ωστόσο η πρόελευση του ιστού του δείγματος, όπως και ο τόπος και ο χρόνος τέλεσης της αξιόποινης πράξης, μπορούν να αλλάξουν την έκβαση μιας υπόθεσης. Για

παράδειγμα, σε περίπτωση σεξουαλικής κακοποίησης, είναι σημαντικό να καταρριφθεί ο ισχυρισμός ότι μια κηλίδα σωματικού υγρού ανήκει σε σάλιο και όχι σε σπέρμα/κολπική έκκριση. Ως εκ τούτου, κρίνονται απαραίτητα στοιχεία για την παροχή επιπλέον στοιχείων στην έρευνα και θα μπορούσαν να αποτελέσουν εμμέσως τμήμα του DNA phenotyping.

Ο προσδιορισμός της ταυτότητας του δείγματος αφορά στην αναγνώριση του ιστού από τον οποίο προέρχεται από ευρήματα σάλιου, σπέρματος, φλεβικού αίματος αλλά και αίματος περιόδου. Βέβαια, αυτή η αναγνώριση δεν είναι πάντοτε σαφής, δεδομένης της πιθανότητας να συνυπάρχουν δείγματα από διαφορετικά σωματικά υγρά. Η δημιουργία προφίλ mRNA χρησιμοποιείται στην ταυτοποίηση των σωματικών υγρών από κηλίδες στον τόπο του αδικήματος και βασίζεται στην διαφορετική έκφραση του mRNA σε κάθε ένα από αυτά. Τα πλεονεκτήματα που παρέχει, εκτός του διαχωρισμού αυτού, είναι η παράλληλη ανάλυση και αναγνώριση όλων των υγρών σε μία μέθοδο PCR αντίστροφης μεταγραφής (RT-PCR), καθώς και η κατανάλωση μικρής ποσότητας δείγματος με την διαδικασία της ταυτόχρονης και αυτόματης απομόνωσης DNA και RNA. Αντίστοιχη μελέτη αναγνώρισε διακριτά mRNA προφίλ για κάθε τύπο υγρού με την επιλογή 7 δεικτών, παρά τις δυσκολίες συνέκφρασης και διασταυρούμενης αντιδραστικότητας κάποιων δεικτών σε περισσότερα του ενός υγρά (Richard και συν. 2012).

Εντούτοις η χρήση του mRNA περιλαμβάνει κάποιους περιορισμούς. Υπάρχει ανασφάλεια εφόσον οι δείκτες που χρησιμοποιούνται έχουν μοναδικό μοτίβο έκφρασης σε κάθε εξεταζόμενο ιστό και από άνθρωπο σε άνθρωπο (Richard και συν. 2012). Επίσης, η σταθερότητα του mRNA επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η υγρασία και γενικότερα είναι επιρρεπές στην αποδόμηση. Συνεπώς η ανάλυση παλιότερων δειγμάτων μπορεί να γίνει υπό προϋποθέσεις, εφόσον έχουν φυλαχθεί σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι δείκτες του microRNA (miRNA) είναι μικρά μόρια που δεν κωδικοποιούν για πρωτεΐνες, έχουν ιστοειδική έκφραση, έχουν μικρότερο μήκος από το mRNA, περίπου 20 bp, και είναι πιο σταθεροί στην αποδόμηση. Η ανακάλυψη των δεικτών αυτών πραγματοποιήθηκε με έκφραση σε μικροσυστοιχίες. Πράγματι με τη μέθοδο της RT-PCR έχει επιτευχθεί διακριτός διαχωρισμός δειγμάτων φλεβικού αίματος και σπέρματος, αλλά όχι των υπόλοιπων σωματικών υγρών, ιδίως του σάλιου και των κολπικών εκκρίσεων (Zubakov και συν. 2010). Σε πιο πρόσφατη μελέτη, αναγνωρίστηκαν διαφορετικοί δείκτες με αυξημένη έκφραση στο σάλιο και στα κολπικά υγρά (Fujimoto και συν. 2019). Το πρόβλημα είναι ότι μερικά miRNA, εξαιτίας της υψηλής τους συντήρησης μεταξύ των ειδών, δεν είναι εξειδικευμένα για το ανθρώπινο είδος (Zubakov και συν. 2010). Επιπρόσθετες μέθοδοι βασίζονται σε δοκιμασίες αμυλάσης (Quarino και συν. 2005), στη μεθυλίωση του DNA (Frumkin και

συν. 2011) και σε ιστοειδικά βακτήρια της στοματικής κοιλότητας (Ohta και Sakurada 2019). Αντίστοιχα, προτείνονται μικροβιακοί δείκτες (*Lactobacilli*) για την ταυτοποίηση των κολπικών εκκρίσεων (Fleming και Harbison 2010), ωστόσο απαιτείται περισσότερη έρευνα.

Ο χρόνος τέλεσης του αδικήματος μπορεί να καθοριστεί μέσω της εξέτασης των βιολογικών υλικών -αν και οι μέχρι στιγμής μελέτες αφορούν σχεδόν αποκλειστικά κηλίδες αίματος και σε ελεγχόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες- σε δύο επίπεδα: στην ημερολογιακή εποχή/χρόνο/μήνα/ημέρα και στον ωριαίο, εντός της ημέρας χρόνο (ημερονύκτιο).

Ο χρόνος που μεσολάβησε από την τέλεση του εγκλήματος μέχρι την εξέταση των ανευρεθέντων βιολογικών υλικών, ίσως θα μπορούσε να προσδιοριστεί με *in vitro* δοκιμασίες αποδόμησης των βιολογικών υλικών (Kayser και de Knijff 2011). Για την χρονολόγηση κηλίδων αίματος έχουν επιστρατευθεί μέθοδοι, όπως ο προσδιορισμός σε ελεγχόμενες συνθήκες, μέσω ποσοτικοποίησης των τμημάτων των 3 μορφών, στις οποίες μπορεί να βρεθεί η αιμοσφαιρίνη ανάλογα με την επαφή της με το οξυγόνο (Bremmer και συν. 2011). Επιπλέον, με τη μέθοδο της RT-PCR μπορεί να προσδιοριστεί σε κηλίδες αίματος η αναλογία των mRNA και rRNA, η οποία είναι γραμμικά εξαρτώμενη από τον χρόνο (Anderson και συν. 2005). Σε συγκεκριμένες *ex vivo* εργαστηριακές συνθήκες έχει εκτιμηθεί ο χρόνος που περνάει από τη στιγμή που η τρίχα αποχωρίζεται το κεφάλι, με βάση τις ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από τη μελανίνη, εξαιτίας της ακτινοβολίας UV, σε ξανθά, καφέ και μαύρα μαλλιά. Έτσι, βρέθηκε ότι οι ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από την ευμελανίνη έχουν χρόνο ημιζωής περίπου 10 φορές μεγαλύτερο από εκείνες της φαιομελανίνης (~22 μέρες έναντι 1-2 μέρες), καταδεικνύοντας τη μεγάλη σταθερότητα της πρώτης (Shankar και συν. 2020).

Ο προσδιορισμός του χρόνου εναπόθεσης του βιολογικού υλικού εντός του 24ώρου, μπορεί να γίνει λαμβάνοντας υπόψιν το προφίλ των κίρκαδικών ορμονών μελατονίνη και κορτιζόλη. Η παραγωγή κορτιζόλης αυξάνεται κατά τις ώρες εγρήγορσης, δηλαδή τις πρωινές, ενώ της μελατονίνης κατά τις ώρες ξεκούρασης, δηλαδή τις βραδινές, και έχουν παρατηρηθεί χαρακτηριστικά προφίλ στις συγκεντρώσεις των ορμονών αυτών σε δείγματα αίματος και σάλιου. Επίσης, υπό συγκεκριμένες συνθήκες, έχει παρατηρηθεί η *in vitro* σταθερότητα της μελατονίνης και η αποδόμηση της κορτιζόλης με το πέρασμα του χρόνου. Ωστόσο οι συγκεντρώσεις αυτές μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τον ατομικό κύκλο ύπνου, όπως επί παραδείγματι η νυχτερινή παραγωγή μελατονίνης μπορεί να μετριασθεί από την έκθεση στο φως. Γι' αυτό είναι απαραίτητη η ανακάλυψη περισσότερων κίρκαδικών βιοδεικτών ανεξάρτητων από εξωτερικούς παράγοντες (Ackermann, Ballantyne και Kayser 2010). Παρά το γεγονός ότι οι κίρκαδικές ορμόνες καθιστούν

αποτελεσματικότερη την εκτίμηση του χρόνου εναπόθεσης του αίματος στον τόπο του αδικήματος σε σχέση με τους δείκτες mRNA, έχει βρεθεί ότι 3 συγκεκριμένοι δείκτες (HSPA1B, MKNK2, PER3) σε συνδυασμό με τις δύο ορμόνες ενισχύουν την πρόβλεψη με AUC 0,88-0,95 από τις πρώτες πρωινές έως τις πρώτες βραδινές ώρες αντίστοιχα (Lech και συν. 2016).

Καταληκτικά, αξίζει να αναφερθεί ο πρωτογενής τόπος, εκεί όπου έλαβε χώρα το γεγονός, και ο δευτερογενής, ο οποίος σχετίζεται με το γεγονός, όπως για παράδειγμα η μεταφορά ενός πτώματος. Ειδικότερα, η ανάπτυξη των μικροβίων του εδάφους ποικίλει ανάλογα με το περιβάλλον οικοσύστημα και την επαφή του με το πτώμα. Ακόμη, στην περίπτωση ενός υπόπτου μπορεί να αποκαλύψει στοιχεία για τις περιοχές που επισκέφθηκε ή ακόμη και την ίδια του την καταγωγή. Επίσης τα μικρόβια του δέρματος μπορούν να αποκαλύψουν την επαφή ατόμων με συγκεκριμένα αντικείμενα, ενώ αντίστοιχα στοιχεία είναι δυνατόν να εξαχθούν και από τρίχες ή σωματικά υγρά. Σε κάθε περίπτωση, η ανάλυση του μικροβιώματος του εδάφους και των ανθρώπων μπορεί να δώσει πολύτιμες πληροφορίες για τον ύποπτο και γενικότερες απαντήσεις σε αναπάντητα ερωτήματα (Oliveira και Amorim 2018).

2.2. Οι ιδιαιτερότητες του μιτοχondριακού DNA και του χρωμοσώματος Y και η βιογεωγραφική καταγωγή στην πρόβλεψη φαινοτύπων

Εκτός από τα εξωτερικά ορατά χαρακτηριστικά (EVCs), το ζήτημα της βιογεωγραφικής καταγωγής είναι αναμφίβολα πρωταρχικής σημασίας στην πρόβλεψη φαινοτύπων με τη βοήθεια των AIMS. Παρά το γεγονός ότι, με τα σημερινά δεδομένα, είναι αδύνατη η γεωγραφική ταυτοποίηση όλων των απογόνων ενός ατόμου, εντούτοις υπάρχουν δείκτες που συμβάλλουν στην αποκάλυψη στοιχείων. Ειδικότερα, οι πληροφορίες που εδράζονται στο χρωμόσωμα Y (Y-SNPs) είναι ο συνδεδετικός κρίκος για την αναζήτηση της πατρικής γραμμής ενός αρσενικού ατόμου, ενώ οι αντίστοιχες του μιτοχondριακού DNA μπορούν να αποκαλύψουν την μητρική καταγωγή (είτε αρσενικού είτε θηλυκού), όντας περιοχές ανεπηρέαστες από ανασυνδυασμούς. Και στις δύο περιπτώσεις, έχουν εντοπιστεί αρκετές απλοομάδες που σχετίζονται ισχυρά με μία συγκεκριμένη ήπειρο, ωστόσο συχνά τα δεδομένα είναι ανεπαρκή και τα εργαλεία πενιχρά ή υπάρχει αλληλοεπικάλυψη περιοχών, έτσι ώστε να μην είναι εφικτή η ευρεία αποκάλυψη φυλογενετικών σχέσεων, παρά την υψηλή γεωγραφική διαφοροποίηση. Όσον αφορά στην βιογεωγραφική ταυτοποίηση ενός ατόμου, γνωρίζοντας ότι οι πρόγονοι πατρικής και μητρικής σειράς μπορεί να κατάγονται από διαφορετικές περιοχές, προτιμάται η συνδυαστική αξιολόγηση των φυλοσύνδετων με αυτοσωμικούς αλλά και μιτοχondριακούς δείκτες. Ωστόσο, όταν πρόκειται για ιατροδικαστικούς σκοπούς, τα αυτοσωμικά SNPs δεν είναι ιδιαίτερος

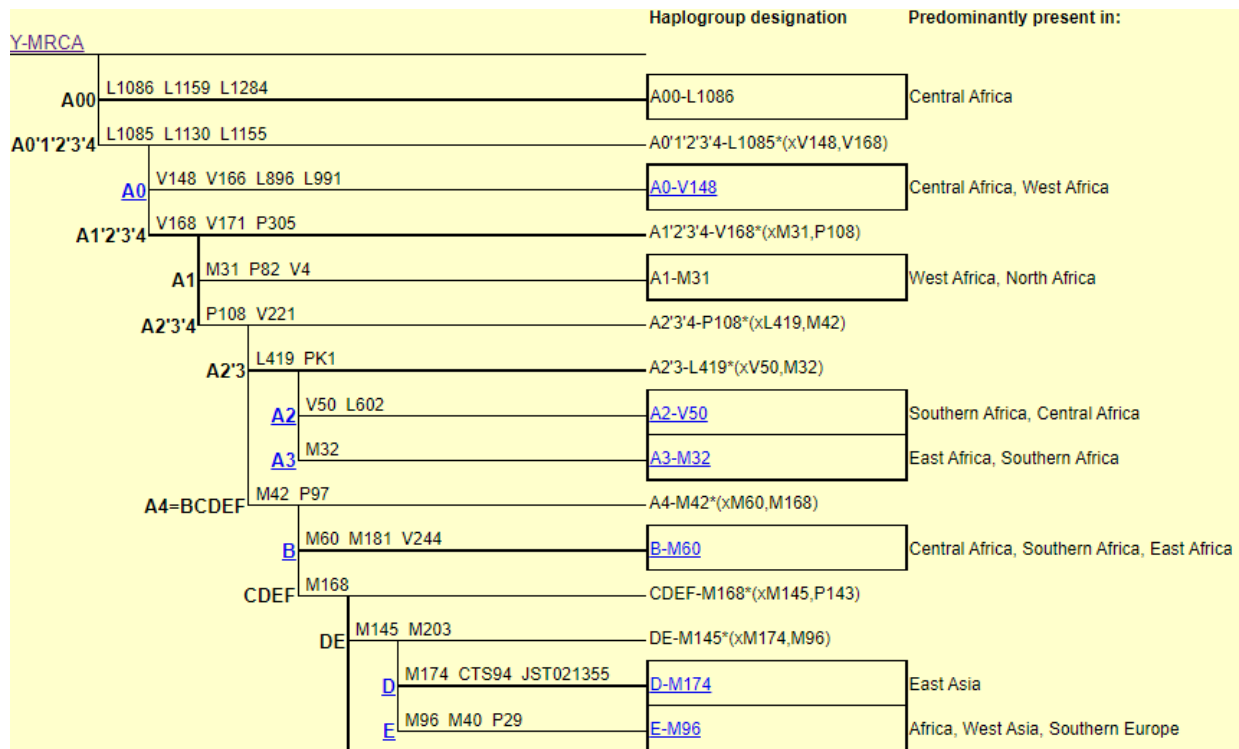
χρήσιμα, ενώ όσο πιο κοντινές είναι οι τοποθεσίες που διερευνώνται -ακόμη και σε επίπεδο χωρών- τόσο δυσκολότερη είναι η αναγνώριση. Για τον σκοπό αυτό, έχουν αναπτυχθεί ειδικά πακέτα αυτοσωμικών δεικτών που στοχεύουν κυρίως στη συσχέτιση ατόμων με ευρύτερες περιοχές, όπως ολόκληρες ηπείρους. Έτσι, συνήθως, γίνεται λόγος για ευρωπαϊκή, υποσαχάρια, αφρικανική, ασιατική κ.λπ. καταγωγή (Kayser και de Knijff 2011; Kayser 2017; Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Επιπρόσθετα, αναπτύσσονται συνεχώς εργαλεία που αφορούν στην παράλληλη αλληλούχιση περισσότερων δεικτών, ώστε να είναι εφικτή η διαφοροποίηση γενετικά συγγενικών πληθυσμών με μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα (Phillips και συν. 2019).

Χρωμόσωμα Y

Η ευκολότερη πρόβλεψη που μπορεί να γίνει αναλύοντας ένα άγνωστο δείγμα αφορά το φύλο με βάση τα χρωμοσώματα X και Y όπου εδράζονται τα γονίδια της αμυλογενίνης αντίστοιχα. Ωστόσο, είναι δυνατόν ένας άνδρας να διαγνωστεί ως γυναίκα όταν εντοπίζεται διαγραφή στο Y χρωμόσωμα που περιλαμβάνει την αμυλογενίνη, η συχνότητα της οποίας διαφέρει από περιοχή σε περιοχή. Γι' αυτό η εξέταση του φύλου, συχνά περιλαμβάνει κι άλλους δείκτες (όπως Y-indels - ενθέσεις/ελλείψεις) διαφορετικούς και απομακρυσμένους από την αμυλογενίνη (Kayser και Schneider 2009; Kayser 2017; Kowalczyk και συν. 2018).

Όπως έχει αναφερθεί, ήδη από τη δεκαετία του '90, οι STRs του χρωμοσώματος Y χρησιμοποιούνται ως δείκτες ιχνηλάτησης της πατρικής σειράς ακόμη και σε μακρινούς συγγενείς σε ζητήματα ιατροδικαστικού ενδιαφέροντος (Kayser και de Knijff 2011; Kayser 2017), με τη βοήθεια ειδικών βάσεων δεδομένων (YHRD), όπου διατηρούνται οι απλότυποι αναφοράς των Y-STRs (Willuweit και Roewer 2015). Η χρήση των Y-STRs παραμένει σημαντική και για μείγματα DNA στην περίπτωση σεξουαλικών εγκλημάτων, όπου το γενετικό υλικό του δράστη βρίσκεται συνήθως σε πολύ μικρή ποσότητα. Συγκεκριμένα για το DNA phenotyping, όταν οι αυτοσωμικοί STRs δεν έχουν αποτέλεσμα, οι δείκτες του Y χρωμοσώματος μπορούν να αποκαλύψουν τη βιογεωγραφική πατρική καταγωγή άγνωστων υπόπτων ή αγνοουμένων, ιδίως οι Y-SNPs, οι οποίοι είναι πιο ανθεκτικοί στις μεταλλάξεις. Φαινόμενα γενετικής παρέκκλισης σε σχέση με το χρωμόσωμα Y, αλλά και πολιτιστικά στοιχεία, όπως η πολυγαμία, έχουν ως αποτέλεσμα την τυχαία γενετική διαφοροποίηση των γεωγραφικών περιοχών (Kayser 2017). Ως εκ τούτου, έχουν σχεδιαστεί γενεαλογικά δέντρα συσχετίζουν τους απλοτύπους του Y χρωμοσώματος με τη βιογεωγραφική καταγωγή (Εικόνα 5) (van Oven και συν. 2013). Ωστόσο, η αναλυτικότερη μελέτη της γεωγραφικής διασποράς των Y-SNPs και οι νέες τεχνολογίες MPS, μπορούν να βοηθήσουν στην μεγαλύτερη διακριτική τους ικανότητα στην αναγνώριση των πατρικών σειρών, ενώ και η πατρική κληρονομία

του επιθέτου μπορεί να βοηθήσει στην αστυνομική έρευνα μέσω των Y-SNPs (King και Jobling 2009).



Εικόνα 5: Τμήμα απλοποιημένου φυλογενετικού δέντρου, όπου φαίνονται οι κλάδοι των απλοομάδων του χρωμοσώματος Y που σχετίζονται με τις διάφορες περιοχές της Αφρικής. Οι απλοομάδες χαρακτηρίζονται αλφαβητικά με τα γράμματα του αλφαβήτου, με βάση την εξελικτική καταγωγή από την Αφρική (van Oven και συν. 2013).

Μιτοχονδριακό DNA (mtDNA)

Το μιτοχονδριακό DNA, όπως αναφέρθηκε, έχει την ιδιαιτερότητα μητρικής κληρονομιάς, από την μητέρα στους απογόνους, συνεπώς η αλληλουχία του διατηρεί όλες τις γενετικές πληροφορίες της μητρικής γραμμής ενός ατόμου, καθιστώντας την ανάλυσή του κατάλληλη για περιπτώσεις όπως η ταυτοποίηση αγνοούμενων θυμάτων. Το μιτοχονδριακό DNA είναι δίκλωνο κυκλικό μόριο που περιέχεται σε κάθε μιτοχόνδριο σε 2-10 αντίγραφα. Δεδομένων των πολλών αντιγράφων που διατηρεί ανά κύτταρο, αλλά και της έντονης παρουσίας του στο κυτταρόπλασμα, είναι ανθεκτικότερο από το πυρηνικό και συνεπώς προτιμάται η ανάλυσή του σε δείγματα παλιά και κατεστραμμένα που περιέχουν μικρή ποσότητα γενετικού υλικού (Dumache και συν. 2016; Amorim, Fernandes και Taveira 2019). Αποτελείται από 37 γονίδια και την περιοχή ελέγχου, η οποία περιλαμβάνει τον βρόγχο D. Η έλλειψη αποτελεσματικών μηχανισμών επιδιόρθωσης και η χαμηλή πιστότητα της DNA πολυμεράσης, οδηγούν σε υψηλές συχνότητες μεταλλάξεων σε σχέση με το πυρηνικό DNA (Sigurðardóttir και συν. 2000). Έτσι, μέσα στον βρόγχο

εντοπίζονται οι υπερμεταβλητές περιοχές HV1, HV2 και HV3 (Greenberg, Newbold και Sugino, 1983), η υψηλή πολυμορφικότητα των οποίων από άτομο σε άτομο (κυρίως των HV1 και HV2), τις καθιστούν κατάλληλες για αναλύσεις ιατροδικαστικού ενδιαφέροντος.

Στα μιτοχονδριακά κύτταρα συχνά συνυπάρχουν δύο τύποι μιτοχονδρίων, είτε εξαιτίας σημειακών μεταλλάξεων είτε πολυμορφισμών μήκους, ένα φαινόμενο που ονομάζεται *ετεροπλασμία*. Όταν υπάρχει ετεροπλασμία στο mtDNA ενός ατόμου, συνήθως αφορά σε διαφορά μίας βάσης στην περιοχή HV1 ή HV2, γεγονός που, δημιουργεί προβλήματα στην προσπάθεια σύνδεσης ατόμων μέσω του mtDNA. Συγκεκριμένα, απόλυτη ταύτιση δύο δειγμάτων μπορεί να σημαίνει ότι αφορούν στο ίδιο άτομο ή σε συγγενικά πρόσωπα. Αντιστοίχως, διαφορά σε δύο ή περισσότερα νουκλεοτίδια, αποκλείει κάθε πιθανότητα συσχέτισης. Αν όμως παρατηρείται διαφορά ενός νουκλεοτιδίου, δεν μπορεί να υπάρξει αποκλεισμός εξαιτίας πιθανής ετεροπλασμίας, γι' αυτό απαιτείται περισσότερη διερεύνηση (Parson et al. 2014; Amorim, Fernandes και Taveira 2019). Ένα ανάλογο παράδειγμα ιατροδικαστικού ενδιαφέροντος αποτελεί το mtDNA της τρίχας, στο οποίο το φαινόμενο της ετεροπλασμίας είναι έντονο, εξαιτίας των αναπτυξιακών καταβολών των θυλάκων κάθε τρίχας. Στην περίπτωση αβεβαιότητας, η σύγκριση των απλότυπων από τη ρίζα της τρίχας και του αίματος ενός ατόμου, μπορεί να αποδείξει αν προέρχονται από άτομο χωρίς ετεροπλασμία (οι απλότυποι ταυτίζονται). Σε άλλη περίπτωση, προτείνεται η ανάλυση περισσότερων τριχών (Bendall, Macaulay και Sykes, 1997). Ωστόσο, αυτό συνήθως είναι ανέφικτο, όταν τα στοιχεία από τον τόπο του αδικήματος είναι ανεπαρκή.

Διαφορετικές παραλλαγές του mtDNA, που οφείλονται σε SNPs, απαντώνται στις διαφορετικές περιοχές του πλανήτη. Η κατηγοριοποίηση των απλοομάδων σε ευρύτερες γεωγραφικές περιοχές παρουσιάζεται, όπως και σε εκείνες του χρωμοσώματος Y, σε φυλογενετικά δέντρα, με διαφορετικά γράμματα της αλφαβήτου για κάθε περιοχή, καταδεικνύοντας την εξελικτική τους πορεία εκκινώντας από έναν κοινό πρόγονο (καταγωγή από την Αφρική) (Amorim, Fernandes και Taveira 2019). Παρά την πεποίθηση της μητρικής κληρονομιάς (το ελάχιστο mtDNA του σπέρματος καταστρέφεται κατά τη γονιμοποίηση), τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει αναφορές για άτομα με mtDNA που προέρχεται και από τους δύο γονείς, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην αμφισβήτηση των στοιχείων που παρέχει το μιτοχονδριακό γονιδίωμα (Luo και συν. 2018).

2.3. Εφαρμογές των νέων τεχνολογιών στην εγκληματολογία

Η γνώση μας γύρω από τους δείκτες και τα γονίδια που σχετίζονται με συγκεκριμένα εξωτερικά χαρακτηριστικά παραμένει περιορισμένη, καθώς η χρηματοδότηση επιστημονικής έρευνας προτιμάται για ανακάλυψη πολυμορφισμών που σχετίζονται με ασθένειες παρά για μελέτες με μεγάλο όγκο δείγματος με στόχο απλή εξερεύνηση του γονιδιώματος (Kayser 2015). Παρά ταύτα, η δημιουργία φαινοτύπου με βάση γενετικό υπόβαθρο βρίσκει εφαρμογές στην γενετική, την επιδημιολογία, την ανθρωπολογία, την ιστορία και την ιατροδικαστική, για την εξιχνίαση εγκλημάτων ή την αναγνώριση συγγενών. Το DNA phenotyping έχει χαρακτηριστεί ως ο “βιολογικός αυτόπτης μάρτυρας” και η χρήση του παρέχει στους ιθύνοντες ένα ποσοστό λάθους, το οποίο μπορούν να λάβουν υπόψιν στην έρευνα, σε αντίθεση με μία μαρτυρία φυσικού προσώπου, η οποία μπορεί να μην έχει ακόμη και καμία βάση αλήθειας ή/και προσωπικό όφελος (Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι τα εργαλεία του DNA phenotyping τίθενται προς χρήση αφού έχει προηγηθεί η δημιουργία προφίλ με δείκτες STRs και η αποτυχία ταυτοποίησής του στις βάσεις δεδομένων (Walsh και συν. 2013).

Παρόλο που η χρήση του FDP είναι γενικότερα περιορισμένη, εντούτοις έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην πρόβλεψη φαινοτύπων από σκελετικά υπολείμματα, συμβάλλοντας έτσι στην αναγνώριση χαμένων προσώπων. Το 2012 με τη βοήθεια της μητρικής σειράς του mtDNA (η πατρική σειρά του Y χρωμοσώματος δεν έδωσε θετικά αποτελέσματα, γεγονός που μπορεί να σημαίνει ότι ίσως υπάρχει κάποια ασυμβατότητα πατρότητας στις προηγούμενες γενιές) και των ζώντων συγγενών, βρέθηκε η ταυτότητα ενός σκελετού, ο οποίος ανήκε στον βασιλιά της Αγγλίας Ριχάρδου του III που έζησε τον 15ο αιώνα. Το σύστημα HirisPlex που επιστρατεύθηκε προέβλεψε γαλανά μάτια με ακρίβεια 95,5% και ξανθά μαλλιά με 77,1%. Τα χαρακτηριστικά αυτά συμφωνούσαν με πορτραίτο του, καθιστώντας την υπόθεση αυτή την παλαιότερη επιτυχημένη εφαρμογή φαινοτυπικής πρόβλεψης μέσω του DNA σε ιστορικό πρόσωπο (King και συν. 2014). Στη βιβλιογραφία εντοπίζεται ακόμη πλήθος εφαρμογών του mtDNA, κυρίως αναγνώρισης ιστορικών προσώπων από σκελετικά απομεινάρια.

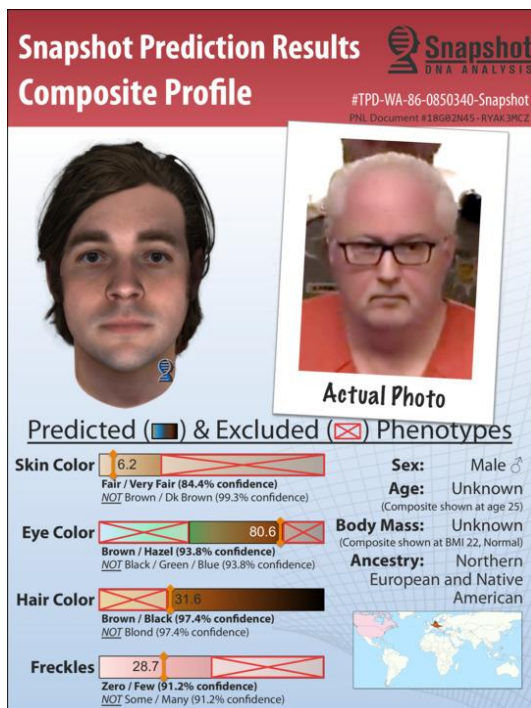
Ανάλογη εφαρμογή έγινε και σε κατατμημένο DNA που προήλθε από αρχαία και σύγχρονα τμήματα από δόντια και κόκκαλα 1-800 ετών. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά για τα 23 από τα 26 δείγματα που αναλύθηκαν με το σύστημα HirisPlex, από τα οποία προέκυψαν ολοκληρωμένα προφίλ για την πρόβλεψη χρώματος ματιών και μαλλιών, ενώ για τα υπόλοιπα 3 μόνο η πρόβλεψη του χρώματος ματιών κατέστη δυνατή (Draus-Barini et al. 2013). Το HirisPlex εφαρμόσθηκε και σε σκελετικά υπολείμματα θυμάτων του δευτέρου παγκοσμίου πολέμου με επίσης μικρή αρχική ποσότητα γενετικού υλικού. Από εκεί προέκυψαν επίσης ολοκληρωμένα προφίλ με μόνο τον δείκτη N29insA (*MC1R*) να απουσιάζει από την πλειονότητα αυτών

(Chaitanya και συν. 2017). Τέλος, τα νεότερα εργαλεία του HirisPlex-S με τη χρήση μαζικής παράλληλης αλληλούχισης εφαρμόστηκαν σε σκελετικά ευρήματα αποδομημένων οστών έως 80 ετών. Τα αποτελέσματα ήταν ολοκληρωμένα για το 55,6% των περιπτώσεων, καθώς το 8% δεν αντιστοιχήθηκε με κάποιο προφίλ και στα υπόλοιπα δείγματα προέκυψαν προβλήματα με ορισμένους δείκτες σχετικούς με το χρώμα του δέρματος (Kukla-Bartoszek και συν. 2020). Από τις παραπάνω εφαρμογές, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι, παρόλο που η αποδόμηση του DNA αποτελεί ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα τα εργαλεία HirisPlex και HirisPlex-S, είναι κατάλληλα για χρήση σε περιπτώσεις αγνοούμενων και μη ταυτοποιήσιμων πτωμάτων/σκελετικών υπολειμμάτων. Επιπλέον, το DNA phenotyping εφαρμόστηκε και θα συνεχίσει να εφαρμόζεται με επιτυχία και σε περιπτώσεις για τις οποίες βασικά αναπτύχθηκε, δηλαδή για αξιόποινες πράξεις. Χαρακτηριστικά παραδείγματα υποθέσεων που παρέμειναν στο αρχείο της αστυνομίας για χρόνια, ακόμη και δεκαετίες, εξιχνιάστηκαν με την πολύτιμη βοήθεια της πρόβλεψης του φαινοτύπου.

Το 2017 δημιουργήθηκε το πρόγραμμα VISAGE (Visible Attributes through Genomics), ένα φιλόδοξο έργο που στοχεύει στην ανάπτυξη και διεύρυνση των εργαλείων ανάλυσης του DNA για ιατροδικαστικούς σκοπούς με σκοπό την δημιουργία προσωπογραφιών των υπόπτων με βάση τα ίχνη που ανευρίσκονται στον τόπο του εγκλήματος. Το βασικό εργαλείο του VISAGE χρησιμοποιεί κατάλληλους δείκτες SNP για την διερεύνηση χρώματος ματιών, μαλλιών και δέρματος (πολλοί από τους οποίους αποτελούν μέρος του συστήματος HirisPlex-S), αλλά και βιογεωγραφικής καταγωγής, σε συνδυασμό με την εκτίμηση της ηλικίας μέσω του βαθμού μεθυλίωσης του DNA σε δύο ξεχωριστές αναλύσεις. Το ενισχυμένο εργαλείο διενεργεί την ταυτόχρονη ανάλυση των τριών στοιχείων (ηλικίας, καταγωγής, χαρακτηριστικών) μέσω νέων ανεπτυγμένων τεχνικών μαζικής παράλληλης αλληλούχισης. Συγχρόνως και με την ανάπτυξη μεθόδων ταυτόχρονης στατιστικής ερμηνείας, στοχεύεται η αύξηση της ευαισθησίας και της ακρίβειας των μεθόδων με επιπλέον μείωση των απαιτούμενων γενετικών δεικτών (συνδυαζόμενοι δείκτες STRs και SNPs) (Palencia-Madrid και συν. 2020; de la Puente και συν. 2021). Συν τοις άλλοις, το VISAGE έχει ως στόχο την αντιμετώπιση και τον μετριασμό ηθικών, νομικών και κοινωνικών προκλήσεων που ανακύπτουν με την ενδεχόμενη δημιουργία σκίτσου του υπόπτου, ακόμη κι αν δεν πρόκειται για πιστό και βέβαιο αντίγραφο ενός προσώπου (Gross, Fleckhaus και Schneider 2021).

Επιπρόσθετα, η εταιρεία Parabon NanoLabs από το 2018, με τη χρήση εξειδικευμένων αλγορίθμων και βιοπληροφορικών αναλύσεων, προσφέρει με το σύστημα SNaPshot αρκετά ακριβή πρόβλεψη καταγωγής, χρώματος ματιών, μαλλιών και δέρματος, μορφολογίας του προσώπου και την ύπαρξη φακίδων. Η τεχνική του SNaPshot βασίζεται στην άντληση δεδομένων και την αλληλούχιση εκατομμυρίων

SNPs με υπάρχουσες συστοιχίες μοριακών δεικτών, ακόμη και με πολύ μικρή αρχική ποσότητα δείγματος, της τάξεως λίγων ng. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται με ποσοστό ακρίβειας της πρόβλεψης για κάθε χαρακτηριστικό και συνοδεύονται από τον χάρτη με την πιθανή καταγωγή κι ένα σχέδιο που εκτιμάται ότι προσομοιάζει στον ύποπτο. Εντούτοις, λόγω της αδυναμίας ταυτοποίησης της ηλικίας, το σκίτσο δημιουργείται εξ' ορισμού στην ηλικία των 25 ετών, ενώ υπάρχει σαφώς και αδυναμία πρόβλεψης και του κουρέματος ενός ανθρώπου (Εικόνα 6) ("DNA Phenotyping - Parabon® Snapshot® DNA Analysis Service" 2022).



Εικόνα 6: Παράδειγμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων από τις προβλέψεις της Parabon και σύγκριση με την πραγματική φωτογραφία του δράστη.

Ωστόσο, παρότι η εταιρεία ισχυρίζεται ότι η μέθοδος της έχει βοηθήσει στην επίλυση δεκάδων υποθέσεων, δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής ακριβή δεδομένα και δημοσιεύσεις για τον τρόπο που προκύπτουν τα αποτελέσματα αυτά και ιδιαίτερα οι προσωπογραφίες, γεγονός που δημιουργεί σύγχυση στην επιστημονική κοινότητα για την ομαλή ηθικά εφαρμογή των μεθόδων αυτών

(Wienroth 2018; Arnold 2020). Δεδομένων των συνθηκών, εγείρονται ενστάσεις από την επιστημονική κοινότητα, καθώς, ελλείψει εμπεριστατωμένων μελετών πάνω στις μεθόδους είναι αδύνατη η αναπαραγωγή και πιστοποίησή τους, ενώ προσπάθειες κατασκευής τέτοιου είδους σκίτσων από άλλους επιστήμονες έχουν αποβεί άκαρπες. Κι ενώ πολλοί επιστήμονες τονίζουν ότι με τα υπάρχοντα δεδομένα και τους δείκτες που έχουν αναπτυχθεί δεν μπορεί να δημιουργηθεί εξ' ολοκλήρου ένα πρόσωπο, υπάρχει η ανησυχία ότι η Parabon καταλήγει στις προσωπογραφίες της ερμηνεύοντας αρκετά αυθαίρετα τα αποτελέσματά της. Ως πρωτεργάτης της ανάπτυξης του DNA phenotyping, ο Manfred Kayser υποστηρίζει πως οι δείκτες που δηλώνει ότι χρησιμοποιεί η εταιρεία σχετίζονται κυρίως με τη βιογεωγραφική καταγωγή και το φύλο και λίγη ακρίβεια μπορούν να παρέχουν για την κατασκευή ενός προσώπου (Wienroth 2018).

Από την άλλη, η μοναδικότητα της μεθόδου της Parabon γνωρίζει μεγάλη αποδοχή από τις αστυνομικές αρχές (Wienroth 2018). Η εταιρεία ισχυρίζεται πως δεν χρειάζεται να γνωρίζει την συνεισφορά κάθε γονιδίου στην εμφάνιση και στη δημιουργία προσωπογραφίας, καθώς τα μαθηματικά μοντέλα της φαίνεται πως έχουν καλή συσχέτιση μεταξύ των SNPs και προσώπων. Εξάλλου, η μέθοδος φαίνεται πως λειτουργεί, ακόμη κι αν δεν έχει δημοσιευθεί λεπτομερώς (Arnold 2020).

3. Βιοηθικοί προβληματισμοί: Είναι το DNA πανάκεια για την δικανική επιστήμη;

Δεν υπάρχει πλέον αμφιβολία πως η ανακάλυψη μεθόδων ανάλυσης του DNA συνιστά την πιο σύγχρονη κι αποτελεσματική μέθοδο διαλεύκανσης υποθέσεων αστυνομικού ενδιαφέροντος, όπως δολοφονίες, ληστείες, βιασμούς, αλλά και ταυτοποίηση θυμάτων και αγνοουμένων, μέχρι και εξακρίβωση της πατρότητας και άλλων συγγενικών σχέσεων ή της βιογεωγραφικής καταγωγής γενικότερα. Βέβαια, έχει σημασία να κατανοούμε πως τα αποτελέσματα που αφορούν ένα προφίλ, αν και φαίνεται εξαιρετικά σπάνιο να “ψεύδονται” για το ίδιο το δείγμα, δεν είναι πάντα απολύτως καταδικαστικά ή αθωωτικά για την ίδια την έκβαση της υπόθεσης. Πράγματι, υπάρχουν πολλές περιπτώσεις στις οποίες, παρόλο που τα αποτελέσματα είναι ακριβή, δεν μπορούν να συνδεθούν ούτε και να διαλευκάνουν ένα ζήτημα που χρήζει δικαστικής παρέμβασης. Επί παραδείγματι, όταν στο όπλο ενός φόνου βρεθεί γενετικό υλικό ενός ατόμου, αυτό δεν σημαίνει αυτομάτως ότι ο κάτοχος του δείγματος είναι ένοχος (μπορεί ωστόσο να συμπεριληφθεί στη λίστα των υπόπτων, αν και τα υπόλοιπα στοιχεία το επιτρέπουν), καθώς είναι πολύ σύνηθες τα γενετικά και δακτυλικά αποτυπώματα του πραγματικού δράστη να έχουν καλυφθεί ή εξαφανιστεί. Κατ’ αντιστοιχία, ένας συγκεκριμένος ύποπτος δεν μπορεί να αποκλειστεί από τη διαδικασία, επειδή το δείγμα του δεν βρέθηκε στον χώρο ή στο θύμα, είτε πρόκειται για θύμα επίθεσης, βιασμού ή δολοφονίας. Και τούτο διότι το DNA μπορεί εύκολα να μεταφερθεί μέσω αντικειμένων και μέσω του σώματος και ίσως υπάρχει μικρή πιθανότητα να εμπλακούν άτομα κατά τύχη, δεδομένου ότι κάθε άνθρωπος μεταφέρει διαφορετικά επίπεδα γενετικού υλικού σε κάθε επιφάνεια (Goray και van Oorschot 2021). Στην περίπτωση αυτή, υπάρχει η δυνατότητα, αν και πρωτόλεια, εκτίμησης του χρονικού διαστήματος τέλεσης του εγκλήματος και σύγκρισής του με το άλλοθι του κατόχου του δείγματος (Lech και συν. 2016). Συν τοις άλλοις, ένας ενδεχόμενος κίνδυνος επιμόλυνσης εξαιτίας της δειγματοληψίας απειλεί να αλλοιώσει το -συνήθως- ήδη κατεστραμμένο και ελάχιστο γενετικό υλικό που βρίσκεται διαθέσιμο στον τόπο του εγκλήματος, γεγονός που οδηγεί και σε λάθη κατά την PCR. Ωστόσο, η ορθότητα της κάθε ανάλυσης έγκειται και στην εξέταση

επαρκούς αριθμού γενετικών τόπων και στην συμπερίληψη των κατάλληλων πληθυσμιακών μελετών, ώστε να λαμβάνεται υπόψιν η συχνότητα εμφάνισής τους στον αντίστοιχο πληθυσμό (Kayser και de Knijff 2011).

Για την ανάλυση του DNA με τη χρήση φαινοτυπικών χαρακτηριστικών αλλά και της βιογεωγραφικής καταγωγής, έχουν διατυπωθεί προβληματισμοί ηθικού, κοινωνικού και νομικού περιεχομένου (Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Ζητήματα, όπως η προστασία των προσωπικών δεδομένων, η προδιάθεση σε ασθένειες, η καταγωγή και η συσχέτισή της με ρατσιστικές συμπεριφορές και με την περιθωριοποίηση κοινωνικών ομάδων, η διατήρηση των δεδομένων στα αρχεία της αστυνομίας, αλλά και το δικαίωμα του κάθε ατόμου να μην γνωρίζει όλες τις πληροφορίες που κρύβει το γενετικό του υλικό, είναι μερικά από τα θέματα που προκαλούν αντιδράσεις και θέτουν περιορισμούς στην νομοθεσία.

3.1. Ανθρώπινα δικαιώματα και ελευθερίες

Όπως θα ήταν αναμενόμενο για κάθε καινοτομία, μία ενδεχόμενη θέσπιση του DNA phenotyping ως βοηθητικού εργαλείου για την αστυνομική έρευνα εγείρει αντιδράσεις και προβληματισμούς, παρόλο που η συμβατική μέθοδος σύγκρισης του DNA με βάσεις δεδομένων και ο μικρός αριθμός αναλυόμενων STRs, θέτουν περιορισμούς. Κύριο ζήτημα αποτελεί η αποκάλυψη και κοινοποίηση στοιχείων για το άτομο παρά τη θέλησή του ή άλλων τα οποία αγνοεί και μπορεί να γνωστοποιηθούν επίσης παρά τη συγκατάθεσή του σε τρίτα πρόσωπα, παραβιάζοντας την ιδιωτικότητα, τα προσωπικά δεδομένα και την αυτονομία του (Kayser και de Knijff 2011). Ο κίνδυνος αποκάλυψης περισσότερων γενετικών πληροφοριών από όσες στοχεύονται, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που αφορούν σε άγνωστες ασθένειες, χωρίς την πλήρη επίγνωση των ενδιαφερομένων, γεννά αβεβαιότητα και αμφιβολία για το αν κάποιες τεχνικές θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ακόμη και στην αναζήτηση υπόπτων (Kayser και Schneider 2009). Για τον λόγο αυτό, η έρευνα περιορίζεται στα εξωτερικά χαρακτηριστικά που είναι εμφανή από την γέννηση και στην βιογεωγραφική καταγωγή (Kayser και de Knijff 2011).

Σημαντικό θέμα αντιπαράθεσης αποτελούν και οι *κωδικές και μη κωδικές περιοχές* στο γονιδίωμα που οι επιστήμονες καλούνται να ερευνήσουν. Παρόλο που τίθενται περιορισμοί στους γενετικούς τόπους που μπορούν να αναλυθούν και αφορούν κυρίως σε ιντρονικές περιοχές, υπάρχει περίπτωση μια περιοχή που δεν κωδικοποιεί για κάποιο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό να έχει μεγάλη εγγύτητα με μία κωδική περιοχή και, ως εκ τούτου, να εκμαιεύονται πληροφορίες εμμέσως. Αυτό συμβαίνει και στην περίπτωση που μελετώνται δείκτες που συνδέονται με τα εξωτερικώς ορατά

χαρακτηριστικά (EVC), καθώς οι ίδιοι δεν κωδικοποιούν για κάποια πρωτεΐνη. Παρά ταύτα, η ίδια η φύση αυτών των αναλύσεων, η οποία περιορίζεται μόνο σε μη κωδικούς δείκτες, θα μπορούσε να θεωρηθεί πως δεν παραβιάζει κάποια νομοθεσία, δεδομένου εξάλλου, ότι τα συμπεράσματα που εξαγονται, συνιστούν μόνο την έκφραση μιας πιθανότητας και όχι βεβαιότητας (Kayser και Schneider 2009). Η χρήση μεθόδων όπως οι μικροσυστοιχίες για δείκτες SNPs και η αλληλούχιση ολόκληρων γονιδιωμάτων προτιμώνται λιγότερο έναντι στοχευμένων τεχνικών, όπως η MPS, καθώς ενδέχεται να αποκαλύψουν περισσότερη γενετική πληροφορία από εκείνη που επιτρέπεται νομικά (Liu και συν. 2019). Επιπροσθέτως, τονίζεται η σημασία περιορισμού της χρήση μεθόδων FDP μόνο σε εκείνες που εγγυώνται υψηλά ποσοστά πρόβλεψης (Schneider, Prainsack και Kayser 2019).

Ηθικά και νομικά ζητήματα ανακύπτουν και εξαιτίας της σύνδεσης πολλών γονιδιακών δεικτών με φαινοτύπους σχετικούς με ασθένειες (Kayser και de Knijff 2011; Kayser 2015; Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Ήδη έχουν αναφερθεί παραδείγματα γονιδίων που χρησιμοποιούνται στα κιτ των προβλέψεων για φαινοτυπικά χαρακτηριστικά, τα οποία συνδέονται με παθολογικούς φαινότυπους, όπως, το *OCA2* με τον αλφισμό τύπου 2 ή γονίδια της μορφολογίας του προσώπου με την υπερωισχιστία και η λαγωχειλία. Οι SNPs που καθορίζουν έναν φυσιολογικό φαινότυπο μπορεί να ταυτίζονται με εκείνους που καθορίζουν μια ακραία έκφρασή του, εντούτοις παθολογική. Αυτό συμβαίνει στην περίπτωση της λαγωχειλίας και του φυσιολογικού πλάτους του προσώπου, αν και οι SNPs καθορίζουν το δεύτερο σε πολύ μικρότερο βαθμό (Kayser 2015). Ιδιαίτερη είναι και η περίπτωση της ανδρογενούς αλωπεκίας, η οποία δεν μπορεί να είναι μόνο φυσιολογικό αποτέλεσμα του γήρατος, αλλά να είναι απόρροια παθολογιών, όπως ο καρκίνος του προστάτη (Samuel και Prainsack 2019). Αναφορά πρέπει να γίνει και στο mtDNA, το οποίο, όντας ένας δείκτης πρόβλεψης της καταγωγής, μπορεί να γίνει μάρτυρας της κατάστασης υγείας των προγόνων του υπόπτου και κατ' επέκταση και του ιδίου (Amorim, Fernandes και Taveira 2019).

Εκτός αυτού, είναι κρίσιμη η αποφυγή της συσχέτισης της *βιογεωγραφικής καταγωγής* όταν γίνεται χρήση των προβλέψεων αυτών, καθώς είναι αρκετά πιθανή η περιθωριοποίηση ομάδων με τα συγκεκριμένα εξωτερικά χαρακτηριστικά που συσχετίζονται με ένα έγκλημα, με κίνητρο την ξеноφοβία, ρατσιστικές πεποιθήσεις και προκαταλήψεις. Βέβαια, είναι εξίσου πιθανή η απόκλιση μιας μειονότητας ως ύποπτης και συνεπώς η αλλαγή μιας στερεότυπης συμπεριφοράς της κοινής γνώμης, λόγω της απουσίας ορισμένου εξεταζόμενου χαρακτηριστικού στην ομάδα αυτή (Kayser και Schneider 2009), αν και συχνά οι βιαιότητες μελών της αστυνομίας προς συγκεκριμένες φυλετικές ομάδες δεν δίνει ενθαρρυντικά στοιχεία (Arnold 2020). Ως εκ τούτου, χρειάζεται ανοιχτή συζήτηση, ενημέρωση και πολύπλευρη γνώση του

θέματος πριν τα κράτη καταλήξουν σε κάποια νομοθεσία. Οι επιστήμονες επισημαίνουν ότι η διερεύνηση της καταγωγής θα πρέπει να αφορά μόνο την βιογεωγραφική προέλευση, χωρίς να συσχετίζεται με την εξωτερική εμφάνιση (Kayser και Schneider 2009). Εξάλλου οι έννοιες της φυλής ή της εθνικότητας δεν αποτελούν πεδία όπου υπεισέρχεται η γενετική και συνεπώς οποιαδήποτε σχετική διερεύνηση δεν είναι απαραίτητη. Κατ' επέκταση, η γλωσσική και θρησκευτική διαφοροποίηση και γενικότερα τα ιδιαίτερα στοιχεία του πολιτισμού, δεν θα πρέπει να συγχέονται και να συσχετίζονται με τη βιογεωγραφική καταγωγή, παρά μόνο με γεωγραφικές περιοχές (Kayser 2015; Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Ωστόσο, είναι αμφίβολο αν όλοι οι αρμόδιοι εμπλεκόμενοι, πολύ δε μάλλον η κοινωνία, έχουν τη διακριτική ικανότητα σωστής ερμηνείας ενός αποτελέσματος, το οποίο για παράδειγμα, συνεπάγεται ότι ο δράστης έχει αφρικανική καταγωγή. Στην περίπτωση αυτή, ο κίνδυνος στοχοποίησης ατόμων με μαύρο χρώμα είναι σχεδόν βέβαιος (Samuel και Prainsack 2019). Συνεπώς, θα πρέπει να επιλέγονται προσεκτικά οι δείκτες AIMS, ώστε να μην αποκαλύπτουν φαινοτυπικά στοιχεία (Marano και συν. 2019). Επιπλέον, η ενημέρωση του κοινού καθίσταται αναγκαία προκειμένου να αποτραπεί η δαιμονοποίηση των νέων τεχνολογιών με την παρουσίαση πραγματικών δεδομένων και όχι τη διασπορά ψευδών ειδήσεων. Πάντως σε πολιτικό επίπεδο αποφεύγεται η σαφής τοποθέτηση για ανάλογα ζητήματα, υπό τον φόβο εντάσεων γύρω από τα ανθρώπινα δικαιώματα της αυτονομίας, της ισότητας και της ελευθερίας (Kayser και Schneider 2009).

Καθώς ένα νέο τεχνολογικό εργαλείο, όπως το DNA phenotyping παρουσιάζεται και παρέχεται προς χρήση στις αρχές, είναι *αμφίβολο αν θα χρησιμοποιηθεί με τρόπο αξιοκρατικό, δίκαιο και απροκατάληπτο*, ιδίως όταν τα στοιχεία για τον ύποπτο είναι ανεπαρκή (Wienroth 2018). Για παράδειγμα, όλοι όσοι μοιράζονται τα χαρακτηριστικά που προβλέπονται ότι ανήκουν στον ύποπτο, συνήθως καλούνται να εξετασθούν και να δώσουν δείγμα DNA. Συνεπώς υπάρχουν ζητήματα μεροληπτικής μεταχείρισης όλων αυτών των ατόμων, τα οποία θεωρούνται ύποπτοι κατά τη διάρκεια αλλά και μετά το πέρας της διαδικασίας (Marano και συν. 2019). Υπάρχουν ορισμένα μέτρα που μπορούν να μετριάσουν τον κίνδυνο δαιμονοποίησης και κακομεταχείρισης που ελλοχεύει για το νέο αυτό εργαλείο. Βασική είναι η εκπαίδευση όσων δουλεύουν στα αντίστοιχα εργαστήρια και διαχειρίζονται είτε άμεσα το γενετικό υλικό και τις νέες τεχνικές είτε έμμεσα μια υπόθεση. Εν ολίγοις, είναι σημαντικό να παράγουν αποτελέσματα αξιόπιστα που μπορούν να ερμηνεύσουν με ασφάλεια, αλλά και να μεταδώσουν στις Αρχές με τρόπο σαφή και εμπειριστωμένο. Συνεπώς και οι ίδιες οι Αρχές θα πρέπει να καταρτίζουν εκπαιδευτικά το προσωπικό τους κατά τον αρτιότερο τρόπο για να κατανοούν και να

αξιολογούν αυτά τα αποτελέσματα ενσωματώνοντάς τα στην υπόθεση και χωρίς να τα παρερμηνεύουν (Schneider, Prainsack και Kayser 2019).

Στον αντίποδα, προβάλλεται η άποψη που υποστηρίζει ότι, εφόσον τα δεδομένα αυτά δεν αποτελούν αυτούσια την γενετική πληροφορία, αλλά εκφράζουν την πιθανότητα ύπαρξης συγκεκριμένων εξωτερικών χαρακτηριστικών, δεν παραβιάζουν την ιδιωτικότητα, ενώ επιπροσθέτως δεν καταλήγουν σε ένα μεμονωμένο άτομο, αλλά περιορίζουν την έρευνα σε μια ομάδα υπόπτων (Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Επιπλέον γίνεται χρήση των δεδομένων (όχι των γονοτυπικών παρά μόνο της πιθανότητας που προκύπτει από αυτά) μόνο από την αστυνομία για υπόπτους άγνωστους, οπότε δεν μπορούν να συνδεθούν με κάποιο συγκεκριμένο άτομο μονάχα με μια ευρεία ομάδα αυτών. Συν τοις άλλοις, ένα εξωτερικό χαρακτηριστικό όπως εκείνα που χρησιμοποιούνται για το DNA phenotyping, είναι ορατό από όλους, συνεπώς υπάρχει η πεποίθηση ότι η αποκάλυψή του δεν συνιστά παραβίαση προσωπικών δεδομένων (Kayser και Schneider 2009; Kayser 2015; Marano και συν. 2019). Παρά ταύτα, υπάρχει ο κίνδυνος ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, όταν ένα άτομο χρησιμοποιεί τεχνητά μέσα για να τροποποιήσει την εμφάνισή του, με αποτέλεσμα να κατατάσσεται εν αγνοία του στη μακρά λίστα των υπόπτων (Samuel και Prainsack 2019).

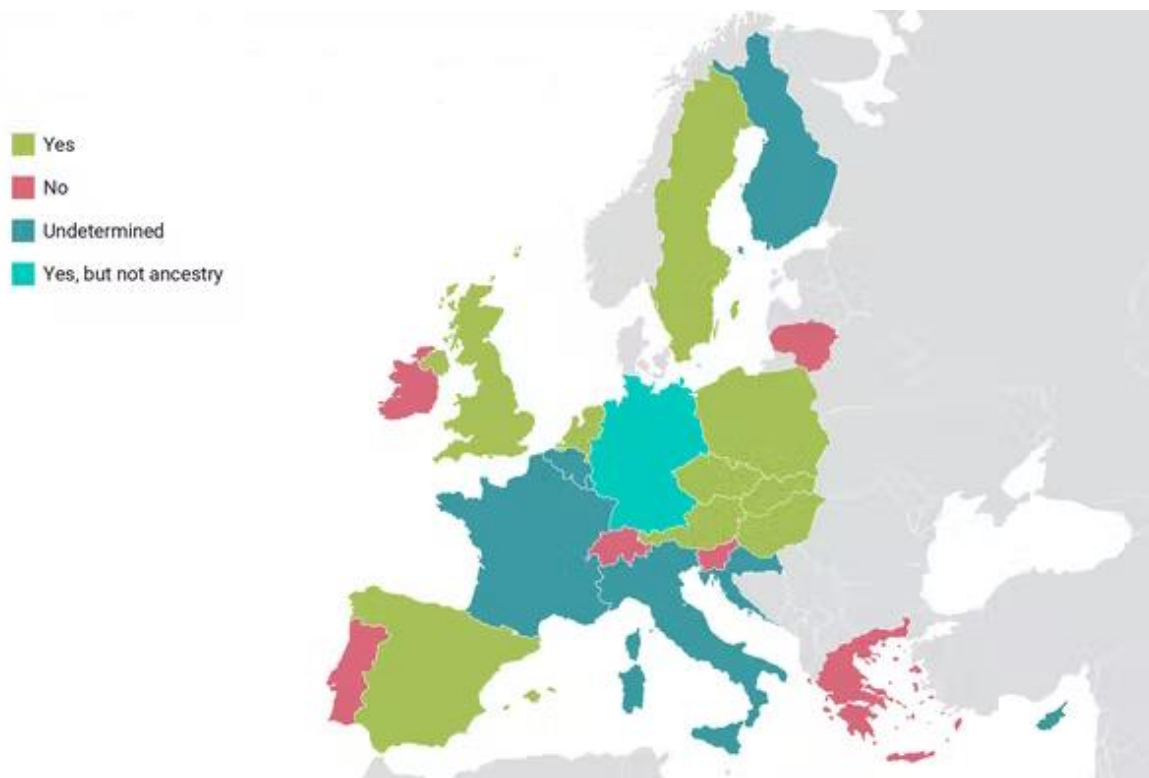
Όσον αφορά στην ύπαρξη μοριακού δείκτη που προμηνύει κάποια ασθένεια, σύμφωνα με μερίδα επιστημόνων, δεν μπορεί να θεωρηθεί απόλυτα μεμπτό, υπό το πρίσμα του ότι ο φορέας δεν είναι απαραίτητο να την εκδηλώσει. Πιστεύεται δε ότι η πιθανότητα αποκάλυψης ενός τέτοιου χαρακτηριστικού εξαιτίας ενός μοριακού δείκτη, είναι ελάχιστη (Kayser και Schneider 2009; Wyner και συν. 2020). Βέβαια, ακόμη κι αν πρόκειται για κοινό γονίδιο, οι μεταλλάξεις που προκαλούν κάποιον παθολογικό φαινότυπο, είναι ως επί το πλείστον διαφορετικές από εκείνες που προκαλούν τις παραλλαγές ενός φυσιολογικού χαρακτηριστικού (Kayser 2015). Εκτός αυτού, μια τέτοια συσχέτιση μπορεί να προέρχεται ίσως και από αλληλεπίδραση των επίμαχων δεικτών με περιβαλλοντικούς ή άλλους συμπαράγοντες, ίσως και προκατάληψη ή τύχη, εφόσον τα αποτελέσματα δεν είναι επαναλήψιμα. Ένα ανάλογο παράδειγμα αποτελούν και οι ψυχικές νόσοι. Η διερεύνηση της αποκλίνουσας και παραβατικής συμπεριφοράς με βάση τη γενετική προδιάθεση, καθίσταται στον νομικό κόσμο αντικείμενο συζητήσεων σχετικά με την αναγκαιότητα ή μη θέσπισης της ως ελαφρυντικής περίπτωσης που θα οδηγήσει σε μείωση της ποινής. Εντούτοις, μία θετική εξέταση για συγκεκριμένους πολυμορφισμούς, δεν εκφράζει βεβαιότητα παρά μόνο την πιθανότητα εμφάνισης ενός συμπεριφορικού χαρακτηριστικού ή μιας ψυχικής νόσου. Εκτός αυτού, αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμορφισμών και εξωγενείς παράγοντες μπορούν να μεταβάλλουν σημαντικά τις πιθανότητες αυτές. Συνεπώς, θα ήταν επισφαλής η ετυμηγορία με βάση πιθανότητες

και όχι τα υπαρκτά στοιχεία, ενώ επιπλέον ο ύποπτος μπορεί να στιγματιστεί από την κοινωνία, χωρίς απαραίτητα να είναι ένοχος καθώς και να λάβει ευνοϊκότερη ή δυσμενέστερη μεταχείριση από το δικαστήριο (Forzano και συν. 2010). Γενικότερα η συσχέτιση ενός δείκτη με χαρακτηριστικά ή ασθένειες, δεν είναι απαραίτητο να αποτελεί αιτιώδη σύνδεσμο, καθώς είναι δυνατό ακόμη και το ίδιο αλληλόμορφο να προκαλεί δύο αντίθετα αποτελέσματα. Έτσι, υποστηρίζεται ότι θα ήταν επιπόλαιο να ταυτιστεί ένα άτομο με μία ασθένεια/φαινότυπο, εκ του γεγονότος ότι διαθέτει έναν δείκτη με προδιάθεση στο χαρακτηριστικό αυτό (Wynne και συν. 2020).

Επιπλέον, η -συνήθως- μικρή ποσότητα και η κακή ποιότητα του γενετικού υλικού που συλλέγεται από τον τόπο του εγκλήματος δεν επιτρέπει ευρύ φάσμα αναλύσεων. Συγκριτικά με καταθέσεις αυτοπτών μαρτύρων, οι οποίες είναι πιθανόν να ενέχουν δόλο, αναξιοπιστία ή ανθρώπινο λάθος και να στοχεύουν/οδηγούν στον αποπροσανατολισμό από την αλήθεια, η μέθοδος του DNA phenotyping είναι στατιστικά πιο αξιόπιστη και οδηγεί σε ασφαλέστερα αποτελέσματα. Τα δεδομένα αυτά, άλλωστε, δεν χρειάζεται να αποθηκευθούν σε βάσεις δεδομένων, καθώς αφορούν αποκλειστικά μία συγκεκριμένη υπόθεση (Kayser και Schneider 2009). Καταληκτικά, παρά τις ανησυχίες και τα ηθικά διλήμματα, μία νέα μέθοδος πάταξης του εγκλήματος, είναι σαφώς προς όφελος της κοινωνίας, ιδίως όταν η εναλλακτική λύση είναι να μείνει ένας εγκληματίας ατιμώρητος κι ελεύθερος να συνεχίσει την ειδεχθή δράση του. Το ενδεδειγμένο, βέβαια, για την εμπεριστατωμένη εξαγωγή συμπεράσματος σε μια διαδικασία ιατροδικαστικής έρευνας, είναι η διεξαγωγή περαιτέρω αναλύσεων στα δείγματα, κατά το μέρος που αυτά το επιτρέπουν, και η αξιολόγησή τους σε συνάρτηση με τα υπόλοιπα στοιχεία και μαρτυρίες της υπόθεσης.

3.2. Ισχύουσα νομοθεσία για το DNA phenotyping στην Ελλάδα και τον κόσμο

Σχεδόν κάθε χώρα διαθέτει συγκεκριμένο νομοθετικό πλαίσιο γύρω από τις μεθόδους ανάλυσης του DNA για ιατροδικαστική χρήση, ωστόσο για τις περισσότερες αυτό περιορίζεται στις παλαιότερες μεθόδους του γενετικού αποτυπώματος και των δακτυλικών αποτυπωμάτων και ως εκ τούτου, δεν έχει επικαιροποιηθεί για την ανάλυση δειγμάτων με σκοπό την πρόβλεψη φαινοτυπικών χαρακτηριστικών. Αναλυτικότερα, οι περισσότερες χώρες δεν έχουν θεσπίσει σχετικό νόμο, κάποιες απαγορεύουν τη χρήση μεθόδων FDP, άλλες επιτρέπουν μερικές από τις δυνατότητες του και σε ελάχιστες χώρες είναι καθόλα νόμιμες (Εικόνα 7) (Kayser 2015; Samuel και Prainsacka 2019). Πάντως, η νομοθέτηση για κάθε είδους ανάλυση του DNA με εφαρμογή στην ιατροδικαστική έρευνα, βασίζεται στο γεγονός ότι οποιοδήποτε δεδομένο αναγνώρισης ενός προσώπου θα πρέπει να λαμβάνεται από μη κωδικές περιοχές του DNA (Kayser and de Knijff 2011).



Εικόνα 7: Διάκριση των χωρών της ΕΕ ανάλογα με τον βαθμό που η νομοθεσία τους επιτρέπει ή απαγορεύει το FDP (Curtis και Hereward 2021).

Η νομοθέτηση του DNA phenotyping σε αυξανόμενο πλέον αριθμό κρατών, δηλώνει πως η ανάγκη νέων εργαλείων ανάλυσης του DNA στην ιατροδικαστική έρευνα είναι μεγάλη. Στην *Ευρώπη*, η εξ' ολοκλήρου εφαρμογή του DNA phenotyping επιτρέπεται με νόμο μόνο σε δύο χώρες, την Ολλανδία και τη Σλοβακία. Με τροποποίηση του υπάρχοντα νόμου ήδη από το 2003 στην Ολλανδία επιτρέπεται η ανάλυση του DNA για σκοπούς πρόβλεψης εξωτερικών χαρακτηριστικών και βιογεωγραφικής καταγωγής. Από αυτόν, αποκλείονται δείκτες που συνδέονται με εξωτερικά χαρακτηριστικά που οφείλονται σε ασθένειες, ώστε να αποφεύγονται οι διακρίσεις προς άτομα με αναπηρίες και παθήσεις. Ο νόμος αφορά μόνο σε χαρακτηριστικά που είναι γνωστά στον ίδιο τον ύποπτο και είναι ορατά από τη γέννησή του (Kayser και Schneider 2009). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η περίπτωση της Γερμανίας, στην οποία από το 2019 το FDP επιτρέπεται, ωστόσο περιορίζεται μόνο στην πρόβλεψη των EVCs και της ηλικίας, απαγορεύοντας εκείνη της βιογεωγραφικής καταγωγής (εξαιρέση αποτελεί η περιοχή της Βαυαρίας, ωστόσο υπό προϋποθέσεις). Επιπλέον, και η εφαρμογή του FDP στο Ηνωμένο Βασίλειο παρουσιάζει ιδιαιτερότητες, καθώς χρησιμοποιείται από τις Αρχές, χωρίς ωστόσο να υπάρχει αντίστοιχη νομοθεσία. Έτσι, τα αποτελέσματά του συνεπικουρούν στην αστυνομική έρευνα αλλά δεν αποτελούν επαρκή κι αποδεκτά στοιχεία στις δικαστικές αίθουσες. Αναλόγως, στην Ισπανία, την

Πολωνία, την Σουηδία, την Ουγγαρία, την Τσεχία και την Αυστρία χρησιμοποιείται σύμφωνα με όσα ορίζουν οι υπάρχοντες νόμοι, ενώ στην Ελβετία απαγορεύεται με νόμο η εφαρμογή του (Schneider, Prainsack και Kayser 2019). Στην Ελλάδα, μετά και την τελευταία τροποποίηση του αντίστοιχου νόμου το 2021, απαγορεύεται οποιαδήποτε άλλη ανάλυση του γενετικού υλικού πέραν των συμβατικών μεθόδων ταυτοποίησης των δραστών, με τον τρόπο που ορίζεται από τον Κώδικα Ποινικής Δικονομίας (N 4620/2019 άρθρο 201, όπως τροποποιήθηκε με τον N 4855/2021).

Εκτός Ευρώπης, έχουν γίνει προτάσεις τροποποίησης του σχετικού νόμου για το γενετικό προφίλ στη Νότια Αφρική υπό πολύ συγκεκριμένες συνθήκες και για ορισμένους σκοπούς (Slabbert και Heathfield 2018). Στις ΗΠΑ δεν έχει δημιουργηθεί ένας ομοσπονδιακός νόμος για το FDP, αλλά αφορά την τοπική νομοθεσία κάθε πολιτείας τι θα εφαρμοστεί σχετικά με το συγκεκριμένο ζήτημα. Συγκεκριμένα, σε τρεις πολιτείες τέτοιες μέθοδοι απαγορεύονται: στην Indiana, το Rhode Island και το Wyoming. Το Texas είναι η μοναδική πολιτεία, στην οποία όχι μόνο επιτρέπεται η διερεύνηση τόσο των EVCs όσο και της βιογεωγραφικής καταγωγής, αλλά και η πρόβλεψη για γενετικά νοσήματα, εφόσον πρόκειται για πολύ συγκεκριμένους λόγους μεταξύ των οποίων και η ταυτοποίηση υπόπτων. Από την άλλη, στην πολιτεία του Vermont δεν απαγορεύεται γενικότερα το DNA phenotyping, αλλά η συσχέτισή του με οποιαδήποτε γενετική διαταραχή ή ιατρικό πρόβλημα (Samuel και Prainsacka 2018). Πιο πρόσφατη κινητοποίηση γύρω από το θέμα έγινε στην Αυστραλία, όπου τον Δεκέμβριο του 2021, η Αυστραλιανή ομοσπονδιακή αστυνομία ανακοίνωσε επίσημα τη χρήση μεθόδων MPS με σκοπό την πρόβλεψη εξωτερικά ορατών χαρακτηριστικών, της βιογεωγραφικής καταγωγής και του φύλου (Curtis και Hereward 2021).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- "Average Height Of Men And Women Worldwide". 2019. *Worlddata.Info*. <https://www.worlddata.info/average-bodyheight.php#by-population>.
- "Combined DNA Index System (CODIS) | Federal Bureau Of Investigation". *Federal Bureau Of Investigation*. <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis>.
- Curtis, Caitlin, and James Hereward. 2021. "New Technology Lets Police Link DNA To Appearance And Ancestry – And It's Coming To Australia". *The Conversation*. <https://theconversation.com/new-technology-lets-police-link-dna-to-appearance-and-ancestry-and-its-coming-to-australia-173334>.
- "DNA Phenotyping - Parabon® Snapshot® DNA Analysis Service". 2022. *Snapshot.Parabon-Nanolabs.Com*. <https://snapshot.parabon-nanolabs.com/phenotyping>.
- "HirisPlex-S Eye, Hair And Skin Colour DNA Phenotyping Webtool". 2018. *HirisPlex.Erasmusmc.Nl*. <https://HirisPlex.erasmusmc.nl/>.
- Aalbers, Sanne E., Michael J. Hipp, Scott R. Kennedy, and Bruce S. Weir. 2020. "Analyzing Population Structure For Forensic STR Markers In Next Generation Sequencing Data". *Forensic Science International: Genetics* 49: 102364.
- Ackermann, Katrin, Kaye N. Ballantyne, and Manfred Kayser. 2010. "Estimating Trace Deposition Time With Circadian Biomarkers: A Prospective And Versatile Tool For Crime Scene Reconstruction". *International Journal Of Legal Medicine* 124 (5): 387-395.
- Adhikari, Kaustubh, Tania Fontanil, Santiago Cal, Javier Mendoza-Revilla, Macarena Fuentes-Guajardo, Juan-Camilo Chacón-Duque, and Farah Al-Saadi et al. 2016a. "A Genome-Wide Association Scan In Admixed Latin Americans Identifies Loci Influencing Facial And Scalp Hair Features". *Nature Communications* 7 (1).
- Adhikari, Kaustubh, Macarena Fuentes-Guajardo, Mirsha Quinto-Sánchez, Javier Mendoza-Revilla, Juan Camilo Chacón-Duque, Victor Acuña-Alonzo, and Claudia Jaramillo et al. 2016b. "A Genome-Wide Association Scan Implicates DCHS2, RUNX2, GLI3, PAX1 And EDAR In Human Facial Variation". *Nature Communications* 7 (1).
- Amorim, António, Teresa Fernandes, and Nuno Taveira. 2019. "Mitochondrial DNA In Human Identification: A Review". *Peerj* 7: e7314.
- Anderson, Stacey, Brandi Howard, Gerald R. Hobbs, and Clifton P. Bishop. 2005. "A Method For Determining The Age Of A Bloodstain". *Forensic Science International* 148 (1): 37-45.
- Arnold, Carrie. 2020. "The Controversial Company Using DNA To Sketch The Faces Of Criminals". *Nature* 585 (7824): 178-181. doi:10.1038/d41586-020-02545-5.
- Aulchenko, Yurii S, Maksim V Struchalin, Nadezhda M Belonogova, Tatiana I Axenovich, Michael N Weedon, Albert Hofman, and Andre G Uitterlinden et al. 2009. "Predicting Human Height By Victorian And Genomic Methods". *European Journal Of Human Genetics* 17 (8): 1070-1075. doi:10.1038/ejhg.2009.5.
- Ballantyne, Kaye N., Miriam Goedbloed, Rixun Fang, Onno Schaap, Oscar Lao, Andreas Wollstein, and Ying Choi et al. 2010. "Mutability Of Y-Chromosomal Microsatellites: Rates,

- Characteristics, Molecular Bases, And Forensic Implications". *The American Journal Of Human Genetics* 87 (3): 341-353.
- Bendall, Kate E., Vincent A. Macaulay, and Bryan C. Sykes. 1997. "Variable Levels Of A Heteroplasmic Point Mutation In Individual Hair Roots". *The American Journal Of Human Genetics* 61 (6): 1303-1308.
- Branicki, Wojciech, Fan Liu, Kate van Duijn, Jolanta Draus-Barini, Ewelina Pośpiech, Susan Walsh, Tomasz Kupiec, Anna Wojas-Pelc, and Manfred Kayser. 2011. "Model-Based Prediction Of Human Hair Color Using DNA Variants". *Human Genetics* 129 (4): 443-454.
- Bremmer, Rolf H., Annemarie Nadort, Ton G. van Leeuwen, Martin J.C. van Gemert, and Maurice C.G. Aalders. 2011. "Age Estimation Of Blood Stains By Hemoglobin Derivative Determination Using Reflectance Spectroscopy". *Forensic Science International* 206 (1-3): 166-171.
- Breslin, Krystal, Bailey Wills, Arwin Ralf, Marina Ventayol Garcia, Magdalena Kukla-Bartoszek, Ewelina Pospiech, and Ana Freire-Aradas et al. 2019. "HirisPlex-S System For Eye, Hair, And Skin Color Prediction From DNA: Massively Parallel Sequencing Solutions For Two Common Forensically Used Platforms". *Forensic Science International: Genetics* 43: 102152.
- Butler, John M., Michael D. Coble, and Peter M. Vallone. 2007. "Strs Vs. Snps: Thoughts On The Future Of Forensic DNA Testing". *Forensic Science, Medicine, And Pathology* 3 (3): 200-205.
- Butler, John M. 2012. *Advanced Topics In Forensic DNA Typing*. 1st ed. Waltham: Academic Press
- Chaitanya, Lakshmi, Irena Zupanič Pajnič, Susan Walsh, Jože Balažič, Tomaž Zupanc, and Manfred Kayser. 2017. "Bringing Colour Back After 70 Years: Predicting Eye And Hair Colour From Skeletal Remains Of World War II Victims Using The HirisPlex System". *Forensic Science International: Genetics* 26: 48-57.
- Chaitanya, Lakshmi, Krystal Breslin, Sofia Zuñiga, Laura Wirken, Ewelina Pośpiech, Magdalena Kukla-Bartoszek, and Titia Sijen et al. 2018. "The HirisPlex-S System For Eye, Hair And Skin Colour Prediction From DNA: Introduction And Forensic Developmental Validation". *Forensic Science International: Genetics* 35: 123-135.
- Claes, Peter, Harold Hill, and Mark D. Shriver. 2014. "Toward DNA-Based Facial Composites: Preliminary Results And Validation". *Forensic Science International: Genetics* 13: 208-216.
- Claes, Peter, Jasmien Roosenboom, Julie D. White, Tomek Swigut, Dzemila Sero, Jiarui Li, and Myoung Keun Lee et al. 2018. "Genome-Wide Mapping Of Global-To-Local Genetic Effects On Human Facial Shape". *Nature Genetics* 50 (3): 414-423.
- de la Puente, María, Jorge Ruiz-Ramírez, Adrián Ambroa-Conde, Catarina Xavier, Jacobo Pardo-Seco, Jose Álvarez-Dios, and Ana Freire-Aradas et al. 2021. "Development And Evaluation Of The Ancestry Informative Marker Panel Of The VISAGE Basic Tool". *Genes* 12 (8): 1284.
- Debus-Sherrill, Sara, and Michael B. Field. 2018. "Familial DNA Searching- An Emerging Forensic Investigative Tool". *Science & Justice* 59 (1): 20-28.

- Draus-Barini, Jolanta, Susan Walsh, Ewelina Pośpiech, Tomasz Kupiec, Henryk Głąb, Wojciech Branicki, and Manfred Kayser. 2013. "Bona Fide Colour: DNA Prediction Of Human Eye And Hair Colour From Ancient And Contemporary Skeletal Remains". *Investigative Genetics* 4 (1).
- Dumache, Raluca, Veronica Ciocan, Camelia-Oana Muesan, and Alexandra Enache. 2016. "Molecular Genetics And Its Applications In Forensic Sciences". *Forensic Analysis - From Death To Justice*.
- Eriksson, Nicholas, J. Michael Macpherson, Joyce Y. Tung, Lawrence S. Hon, Brian Naughton, Serge Saxonov, Linda Avey, Anne Wojcicki, Itsik Pe'er, and Joanna Mountain. 2010. "Web-Based, Participant-Driven Studies Yield Novel Genetic Associations For Common Traits". *Plos Genetics* 6 (6): e1000993.
- Fleming, Rachel I., and SallyAnn Harbison. 2010. "The Use Of Bacteria For The Identification Of Vaginal Secretions". *Forensic Science International: Genetics* 4 (5): 311-315.
- Forzano, Francesca, Pascal Borry, Anne Cambon-Thomsen, Shirley V Hodgson, Aad Tibben, Petrus de Vries, Carla van El, and Martina Cornel. 2010. "Italian Appeal Court: A Genetic Predisposition To Commit Murder?". *European Journal Of Human Genetics* 18 (5): 519-521.
- Freire-Aradas, A., Y. Ruiz, C. Phillips, O. Maroñas, J. Söchtig, A. Gómez Tato, and J. Álvarez Dios et al. 2014. "Exploring Iris Colour Prediction And Ancestry Inference In Admixed Populations Of South America". *Forensic Science International: Genetics* 13: 3-9.
- Frumkin, Dan, Adam Wasserstrom, Bruce Budowle, and Ariane Davidson. 2011. "DNA Methylation-Based Forensic Tissue Identification". *Forensic Science International: Genetics* 5 (5): 517-524.
- Fujimoto, Akihiro, Nao Nishida, Ryosuke Kimura, Taku Miyagawa, Rika Yuliwulandari, Lilian Batubara, and Mohammad Syamsul Mustofa et al. 2009. "FGFR2 Is Associated With Hair Thickness In Asian Populations". *Journal Of Human Genetics* 54 (8): 461-465.
- Fujimoto, Shuntaro, Sho Manabe, Chie Morimoto, Munetaka Ozeki, Yuya Hamano, Eriko Hirai, Hirokazu Kotani, and Keiji Tamaki. 2019. "Distinct Spectrum Of MicroRNA Expression In Forensically Relevant Body Fluids And Probabilistic Discriminant Approach". *Scientific Reports* 9 (1).
- Goray, M., and R.A.H. van Oorschot. 2021. "Shedder Status: Exploring Means Of Determination". *Science & Justice* 61 (4): 391-400.
- Greenberg, Barry D., John E. Newbold, and Akio Sugino. 1983. "Intraspecific Nucleotide Sequence Variability Surrounding The Origin Of Replication In Human Mitochondrial DNA". *Gene* 21 (1-2): 33-49.
- Grimes, Eileen A., Penny J. Noake, Lindsey Dixon, and Andrew Urquhart. 2001. "Sequence Polymorphism In The Human Melanocortin 1 Receptor Gene As An Indicator Of The Red Hair Phenotype". *Forensic Science International* 122 (2-3): 124-129.
- Gross, Theresa E., Jan Fleckhaus, and Peter M. Schneider. 2021. "Progress In The Implementation Of Massively Parallel Sequencing For Forensic Genetics: Results Of A

- European-Wide Survey Among Professional Users". *International Journal Of Legal Medicine* 135 (4): 1425-1432.
- Guo, Jing, Jingze Tan, Yajun Yang, Hang Zhou, Sile Hu, Agu Hashan, and Nurmamat Bahaxar et al. 2014. "Variation And Signatures Of Selection On The Human Face". *Journal Of Human Evolution* 75: 143-152.
- Hagenaars, Saskia P., W. David Hill, Sarah E. Harris, Stuart J. Ritchie, Gail Davies, David C. Liewald, Catharine R. Gale, David J. Porteous, Ian J. Deary, and Riccardo E. Marioni. 2017. "Genetic Prediction Of Male Pattern Baldness". *PLOS Genetics* 13 (2): e1006594.
- Hallgrimsson, Benedikt, Washington Mio, Ralph S. Marcucio, and Richard Spritz. 2014. "Let's Face It—Complex Traits Are Just Not That Simple". *Plos Genetics* 10 (11): e1004724.
- Heilmann, Stefanie, Amy K. Kiefer, Nadine Fricker, Dmitriy Drichel, Axel M. Hillmer, Christine Herold, and Joyce Y. Tung et al. 2013. "Androgenetic Alopecia: Identification Of Four Genetic Risk Loci And Evidence For The Contribution Of WNT Signaling To Its Etiology". *Journal Of Investigative Dermatology* 133 (6): 1489-1496.
- Henry Arnaud, Celia. 2017. "Thirty Years Of DNA Forensics: How DNA Has Revolutionized Criminal Investigations". *C&EN Global Enterprise* 95 (37): 16-20.
- Hernando, Barbara, Maria Victoria Ibañez, Julio Alberto Deserio-Cuesta, Raquel Soria-Navarro, Inca Vilar-Sastre, and Conrado Martinez-Cadenas. 2018. "Genetic Determinants Of Freckle Occurrence In The Spanish Population: Towards Ephelides Prediction From Human DNA Samples". *Forensic Science International: Genetics* 33: 38-47.
- Jacobs, Leonie C., Merel A. Hamer, David A. Gunn, Joris Deelen, Jaspal S. Lall, Diana van Heemst, and Hae-Won Uh et al. 2015. "A Genome-Wide Association Study Identifies The Skin Color Genes IRF4 , MC1R , ASIP , And BNC2 Influencing Facial Pigmented Spots". *Journal Of Investigative Dermatology* 135 (7): 1735-1742.
- Jain, Anil K., Salil Prabhakar, and Sharath Pankanti. 2002. "On The Similarity Of Identical Twin Fingerprints". *Pattern Recognition* 35 (11): 2653-2663.
- Jeffreys, Alec J., Victoria Wilson, and Swee Lay Thein. 1985. "Individual-Specific 'Fingerprints' Of Human DNA". *Nature* 316 (6023): 76-79.
- Kayser, Manfred, and Peter de Knijff. 2011. "Improving Human Forensics Through Advances In Genetics, Genomics And Molecular Biology". *Nature Reviews Genetics* 12 (3): 179-192.
- Kayser, Manfred, and Peter M. Schneider. 2009. "DNA-Based Prediction Of Human Externally Visible Characteristics In Forensics: Motivations, Scientific Challenges, And Ethical Considerations". *Forensic Science International: Genetics* 3 (3): 154-161.
- Kayser, Manfred. 2015. "Forensic DNA Phenotyping: Predicting Human Appearance From Crime Scene Material For Investigative Purposes". *Forensic Science International: Genetics* 18: 33-48.
- Kayser, Manfred. 2017. "Forensic Use Of Y-Chromosome DNA: A General Overview". *Human Genetics* 136 (5): 621-635.
- Kenny, Eimear E., Nicholas J. Timpson, Martin Sikora, Muh-Ching Yee, Andrés Moreno-Estrada, Celeste Eng, and Scott Huntsman et al. 2012. "Melanesian Blond Hair Is Caused By An Amino Acid Change In TYRP1". *Science* 336 (6081): 554-554.

- Kimpton, Colin, Deborah Fisher, Stephanie Watson, Maia Adams, Andy Urquhart, Joan Lygo, and Peter Gill. 1994. "Evaluation Of An Automated DNA Profiling System Employing Multiplex Amplification Of Four Tetrameric STR Loci". *International Journal Of Legal Medicine* 106 (6): 302-311.
- King, Turi E., and Mark A. Jobling. 2009. "What's In A Name? Y Chromosomes, Surnames And The Genetic Genealogy Revolution". *Trends In Genetics* 25 (8): 351-360.
- King, Turi E., Gloria Gonzalez Fortes, Patricia Balaesque, Mark G. Thomas, David Balding, Pierpaolo Maisano Delser, and Rita Neumann et al. 2014. "Identification Of The Remains Of King Richard III". *Nature Communications* 5 (1).
- Kowalczyk, Marek, Ewelina Zawadzka, Dariusz Szewczuk, Magdalena Gryzińska, and Andrzej Jakubczak. 2018. "Molecular Markers Used In Forensic Genetics". *Medicine, Science And The Law* 58 (4): 201-209.
- Kukla-Bartoszek, Magdalena, Ewelina Pośpiech, Anna Woźniak, Michał Boroń, Joanna Karłowska-Pik, Paweł Teisseyre, and Magdalena Zubańska et al. 2019. "DNA-Based Predictive Models For The Presence Of Freckles". *Forensic Science International: Genetics* 42: 252-259.
- Kukla-Bartoszek, Magdalena, Ewelina Pośpiech, Magdalena Spólnicka, Joanna Karłowska-Pik, Dominik Strapagiel, Elżbieta Żądzińska, and Iwona Rosset et al. 2018. "Investigating The Impact Of Age-Depended Hair Colour Darkening During Childhood On DNA-Based Hair Colour Prediction With The HirisPlex System". *Forensic Science International: Genetics* 36: 26-33.
- Kukla-Bartoszek, Magdalena, Maria Szargut, Ewelina Pośpiech, Marta Diepenbroek, Grażyna Zielińska, Agata Jarosz, and Danuta Piniewska-Róg et al. 2020. "The Challenge Of Predicting Human Pigmentation Traits In Degraded Bone Samples With The MPS-Based HirisPlex-S System". *Forensic Science International: Genetics* 47: 102301.
- Lamason, Rebecca L., Manzoor-Ali P.K. Mohideen, Jason R. Mest, Andrew C. Wong, Heather L. Norton, Michele C. Aros, and Michael J. Jurynec et al. 2005. "SLC24A5, A Putative Cation Exchanger, Affects Pigmentation In Zebrafish And Humans". *Science* 310 (5755): 1782-1786.
- Lander, Eric S., Lauren M. Linton, Bruce Birren, Chad Nusbaum, Michael C. Zody, Jennifer Baldwin, and Keri Devon et al. 2001. "Initial Sequencing And Analysis Of The Human Genome". *Nature* 409 (6822): 860-921.
- Lango Allen, Hana, Karol Estrada, Guillaume Lettre, Sonja I. Berndt, Michael N. Weedon, Fernando Rivadeneira, and Cristen J. Willer et al. 2010. "Hundreds Of Variants Clustered In Genomic Loci And Biological Pathways Affect Human Height". *Nature* 467 (7317): 832-838.
- Lech, Karolina, Fan Liu, Katrin Ackermann, Victoria L. Revell, Oscar Lao, Debra J. Skene, and Manfred Kayser. 2016. "Evaluation Of Mrna Markers For Estimating Blood Deposition Time: Towards Alibi Testing From Human Forensic Stains With Rhythmic Biomarkers". *Forensic Science International: Genetics* 21: 119-125.

- Lee, Ai-Young. 2021. "Skin Pigmentation Abnormalities And Their Possible Relationship With Skin Aging". *International Journal Of Molecular Sciences* 22 (7): 3727.
- Li, Chengtao. 2018. "Forensic Genetics". *Forensic Sciences Research* 3 (2): 103-104.
- Li, Rui, Felix F. Brockschmidt, Amy K. Kiefer, Hreinn Stefansson, Dale R. Nyholt, Kijoung Song, and Sita H. Vermeulen et al. 2012. "Six Novel Susceptibility Loci For Early-Onset Androgenetic Alopecia And Their Unexpected Association With Common Diseases". *Plos Genetics* 8 (5): e1002746.
- Liu, Fan, A. Emile J. Hendriks, Arwin Ralf, Annemieke M. Boot, Emelie Benyi, Lars Sävendahl, and Ben A. Oostra et al. 2014. "Common DNA Variants Predict Tall Stature In Europeans". *Human Genetics* 133 (5): 587-597.
- Liu, Fan, Fedde van der Lijn, Claudia Schurmann, Gu Zhu, M. Mallar Chakravarty, Pirro G. Hysi, and Andreas Wollstein et al. 2012. "A Genome-Wide Association Study Identifies Five Loci Influencing Facial Morphology In Europeans". *Plos Genetics* 8 (9): e1002932.
- Liu, Fan, Kaiyin Zhong, Xiaoxi Jing, André G. Uitterlinden, A. Emile J. Hendriks, Stenvert L.S. Drop, and Manfred Kayser. 2019. "Update On The Predictability Of Tall Stature From DNA Markers In Europeans". *Forensic Science International: Genetics* 42: 8-13.
- Liu, Fan, Kate van Duijn, Johannes R. Vingerling, Albert Hofman, André G. Uitterlinden, A. Cecile J.W. Janssens, and Manfred Kayser. 2009. "Eye Color And The Prediction Of Complex Phenotypes From Genotypes". *Current Biology* 19 (5): R192-R193.
- Liu, Fan, Maksim V. Struchalin, Kate van Duijn, Albert Hofman, André G. Uitterlinden, Cornelia van Duijn, Yurii S. Aulchenko, and Manfred Kayser. 2011. "Detecting Low Frequent Loss-Of-Function Alleles In Genome Wide Association Studies With Red Hair Color As Example". *Plos ONE* 6 (11): e28145.
- Liu, Fan, Merel A Hamer, Stefanie Heilmann, Christine Herold, Susanne Moebus, Albert Hofman, and André G Uitterlinden et al. 2015b. "Prediction Of Male-Pattern Baldness From Genotypes". *European Journal Of Human Genetics* 24 (6): 895-902.
- Liu, Fan, Mijke Visser, David L. Duffy, Pirro G. Hysi, Leonie C. Jacobs, Oscar Lao, and Kaiyin Zhong et al. 2015a. "Genetics Of Skin Color Variation In Europeans: Genome-Wide Association Studies With Functional Follow-Up". *Human Genetics* 134 (8): 823-835.
- Liu, Fan, Yan Chen, Gu Zhu, Pirro G Hysi, Sijie Wu, Kaustubh Adhikari, and Krystal Breslin et al. 2017. "Meta-Analysis Of Genome-Wide Association Studies Identifies 8 Novel Loci Involved In Shape Variation Of Human Head Hair". *Human Molecular Genetics* 27 (3): 559-575.
- Luo, Shiyu, C. Alexander Valencia, Jinglan Zhang, Ni-Chung Lee, Jesse Slone, Baoheng Gui, and Xinjian Wang et al. 2018. "Biparental Inheritance Of Mitochondrial DNA In Humans". *Proceedings Of The National Academy Of Sciences* 115 (51): 13039-13044.
- Marano, Leonardo Arduino, and Cintia Fridman. 2019. "DNA Phenotyping: Current Application In Forensic Science". *Research And Reports In Forensic Medical Science* 9: 1-8.
- Marcińska, Magdalena, Ewelina Pośpiech, Sarah Abidi, Jeppe Dyrberg Andersen, Margreet van den Berge, Ángel Carracedo, and Mayra Eduardoff et al. 2015. "Evaluation Of DNA

- Variants Associated With Androgenetic Alopecia And Their Potential To Predict Male Pattern Baldness". *PLOS ONE* 10 (5): e0127852.
- Maroñas, Olalla, Chris Phillips, Jens Söchtig, Antonio Gomez-Tato, Raquel Cruz, José Alvarez-Dios, and María Casares de Cal et al. 2014. "Development Of A Forensic Skin Colour Predictive Test". *Forensic Science International: Genetics* 13: 34-44.
- Marouli, Eirini, Mariaelisa Graff, Carolina Medina-Gomez, Ken Sin Lo, Andrew R. Wood, Troels R. Kjaer, and Rebecca S. Fine et al. 2017. "Rare And Low-Frequency Coding Variants Alter Human Adult Height". *Nature* 542 (7640): 186-190.
- Medland, Sarah E., Dale R. Nyholt, Jodie N. Painter, Brian P. McEvoy, Allan F. McRae, Gu Zhu, and Scott D. Gordon et al. 2009. "Common Variants In The Trichohyalin Gene Are Associated With Straight Hair In Europeans". *The American Journal Of Human Genetics* 85 (5): 750-755.
- Medland, Sarah E., Gu Zhu, and Nicholas G. Martin. 2009. "Estimating The Heritability Of Hair Curliness In Twins Of European Ancestry". *Twin Research And Human Genetics* 12 (5): 514-518.
- Mehta, Bhavik, Runa Daniel, Chris Phillips, and Dennis McNevin. 2016. "Forensically Relevant Snapshot® Assays For Human DNA SNP Analysis: A Review". *International Journal Of Legal Medicine* 131 (1): 21-37.
- Nuwaihyd, Rima, Silke Redler, Stefanie Heilmann, Dmitriy Drichel, Sabrina Wolf, Pattie Birch, and Kathy Dobson et al. 2013. "Investigation Of Four Novel Male Androgenetic Alopecia Susceptibility Loci: No Association With Female Pattern Hair Loss". *Archives Of Dermatological Research* 306 (4): 413-418.
- Ohta, Jun, and Koichi Sakurada. 2019. "Oral Gram-Positive Bacterial DNA-Based Identification Of Saliva From Highly Degraded Samples". *Forensic Science International: Genetics* 42: 103-112.
- Oliveira, Manuela, and António Amorim. 2018. "Microbial Forensics: New Breakthroughs And Future Prospects". *Applied Microbiology And Biotechnology* 102 (24): 10377-10391.
- O'Sullivan, James D. B., Carina Nicu, Martin Picard, Jérémy Chéret, Barbara Bedogni, Desmond J. Tobin, and Ralf Paus. 2020. "The Biology Of Human Hair Greying". *Biological Reviews* 96 (1): 107-128. doi:10.1111/brv.12648.
- Palencia-Madrid, Leire, Catarina Xavier, María de la Puente, Carsten Hohoff, Christopher Phillips, Manfred Kayser, and Walther Parson. 2020. "Evaluation Of The VISAGE Basic Tool For Appearance And Ancestry Prediction Using Powerseq Chemistry On The Miseq Fgx System". *Genes* 11 (6): 708.
- Parson, W., L. Gusmão, D.R. Hares, J.A. Irwin, W.R. Mayr, N. Morling, and E. Pokorak et al. 2014. "DNA Commission Of The International Society For Forensic Genetics: Revised And Extended Guidelines For Mitochondrial DNA Typing". *Forensic Science International: Genetics* 13: 134-142.
- Paternoster, Lavinia, Alexei I. Zhurov, Arshed M. Toma, John P. Kemp, Beate St. Pourcain, Nicholas J. Timpson, and George McMahon et al. 2012. "Genome-Wide Association Study

- Of Three-Dimensional Facial Morphology Identifies A Variant In PAX3 Associated With Nasion Position". *The American Journal Of Human Genetics* 90 (3): 478-485.
- Peng, Fuduan, Gu Zhu, Pirro G. Hysi, Ryan J. Eller, Yan Chen, Yi Li, and Merel A. Hamer et al. 2019. "Genome-Wide Association Studies Identify Multiple Genetic Loci Influencing Eyebrow Color Variation In Europeans". *Journal Of Investigative Dermatology* 139 (7): 1601-1605.
- Phillips, C., D. McNevin, K.K. Kidd, R. Lagacé, S. Wootton, M. de la Puente, and A. Freire-Aradas et al. 2019. "Maplex - A Massively Parallel Sequencing Ancestry Analysis Multiplex For Asia-Pacific Populations". *Forensic Science International: Genetics* 42: 213-226.
- Pirastu, Nicola, Peter K. Joshi, Paul S. de Vries, Marilyn C. Cornelis, Paul M. McKeigue, NaNa Keum, and Nora Franceschini et al. 2017. "GWAS For Male-Pattern Baldness Identifies 71 Susceptibility Loci Explaining 38% Of The Risk". *Nature Communications* 8 (1).
- Pośpiech, Ewelina, Joanna Karłowska-Pik, Magdalena Kukla-Bartoszek, Anna Woźniak, Michał Boroń, Magdalena Zubańska, and Agata Jarosz et al. 2022. "Overlapping Association Signals In The Genetics Of Hair-Related Phenotypes In Humans And Their Relevance To Predictive DNA Analysis". *Forensic Science International: Genetics*, 102693.
- Pośpiech, Ewelina, Joanna Karłowska-Pik, Magdalena Marcińska, Sarah Abidi, Jeppe Dyrberg Andersen, Margreet van den Berge, and Ángel Carracedo et al. 2015. "Evaluation Of The Predictive Capacity Of DNA Variants Associated With Straight Hair In Europeans". *Forensic Science International: Genetics* 19: 280-288.
- Pośpiech, Ewelina, Yan Chen, Magdalena Kukla-Bartoszek, Krystal Breslin, Anastasia Aliferi, Jeppe D. Andersen, and David Ballard et al. 2018. "Towards Broadening Forensic DNA Phenotyping Beyond Pigmentation: Improving The Prediction Of Head Hair Shape From DNA". *Forensic Science International: Genetics* 37: 241-251.
- Prodi, Dionigio Antonio, Nicola Pirastu, Giuseppe Maninchedda, Alessandro Sassu, Andrea Picciau, Maria Antonietta Palmas, and Alessandra Mossa et al. 2008. "EDA2R Is Associated With Androgenetic Alopecia". *Journal Of Investigative Dermatology* 128 (9): 2268-2270.
- Qiao, Lu, Yajun Yang, Pengcheng Fu, Sile Hu, Hang Zhou, Shouneng Peng, and Jingze Tan et al. 2018. "Genome-Wide Variants Of Eurasian Facial Shape Differentiation And A Prospective Model Of DNA Based Face Prediction". *Journal Of Genetics And Genomics* 45 (8): 419-432.
- Quarino, Lawrence, Qui Dang, John Hartmann, and Nora Moynihan. 2005. "An Elisa Method For The Identification Of Salivary Amylase". *Journal Of Forensic Sciences* 50 (4): 1-4.
- Ralf, Arwin, and Manfred Kayser. 2021. "Investigative DNA Analysis Of Two-Person Mixed Crime Scene Trace In A Murder Case". *Forensic Science International: Genetics* 54: 102557.
- Rees, Jonathan L. 2003. "Genetics Of Hair And Skin Color". *Annual Review Of Genetics* 37 (1): 67-90.
- Richard, Mara L. Lennard, Kathryn A. Harper, Rhonda L. Craig, Anthony J. Onorato, James M. Robertson, and Joseph Donfack. 2012. "Evaluation Of Mrna Marker Specificity For The Identification Of Five Human Body Fluids By Capillary Electrophoresis". *Forensic Science International: Genetics* 6 (4): 452-460.

- Robinson, Edward M. 2010. *Crime Scene Photography*. 2nd ed. Amsterdam: Academic Press/Elsevier.
- Ruiz, Y., C. Phillips, A. Gomez-Tato, J. Alvarez-Dios, M. Casares de Cal, R. Cruz, and O. Maroñas et al. 2013. "Further Development Of Forensic Eye Color Predictive Tests". *Forensic Science International: Genetics* 7 (1): 28-40.
- Sabeeha, and Seyed E. Hasnain. 2019. "Forensic Epigenetic Analysis: The Path Ahead". *Medical Principles And Practice* 28 (4): 301-308.
- Samuel, Gabrielle, and Barbara Prainsack. 2018. "The regulatory landscape of forensic DNA phenotyping in Europe VISAGE".
- Samuel, Gabrielle, and Barbara Prainsack. 2019. "Forensic DNA Phenotyping In Europe: Views "On The Ground" From Those Who Have A Professional Stake In The Technology". *New Genetics And Society* 38 (2): 119-141.
- Schneider, Peter M., Barbara Prainsack, and Manfred Kayser. 2019. "The Use Of Forensic DNA Phenotyping In Predicting Appearance And Biogeographic Ancestry". *Deutsches Ärzteblatt International* 116: 873-880.
- Sero, Dzemila, Arslan Zaidi, Jiarui Li, Julie D. White, Tomás B. González Zarzar, Mary L. Marazita, and Seth M. Weinberg et al. 2019. "Facial Recognition From DNA Using Face-To-DNA Classifiers". *Nature Communications* 10 (1).
- Shaffer, John R., Jinxi Li, Myoung Keun Lee, Jasmien Roosenboom, Ekaterina Orlova, Kaustabh Adhikari, and Carla Gallo et al. 2017. "Multiethnic GWAS Reveals Polygenic Architecture Of Earlobe Attachment". *The American Journal Of Human Genetics* 101 (6): 913-924.
- Shah, Sonia, Marc J. Bonder, Riccardo E. Marioni, Zhihong Zhu, Allan F. McRae, Alexandra Zhernakova, and Sarah E. Harris et al. 2015. "Improving Phenotypic Prediction By Combining Genetic And Epigenetic Associations". *The American Journal Of Human Genetics* 97 (1): 75-85.
- Shankar, Nikhita, André O. Guimarães, Eleonora Napoli, and Cecilia Giulivi. 2020. "Forensic Determination Of Hair Deposition Time In Crime Scenes Using Electron Paramagnetic Resonance". *Journal Of Forensic Sciences* 66 (1): 72-82.
- Sigurðardóttir, Sigrún, Agnar Helgason, Jeffrey R. Gulcher, Kári Stefansson, and Peter Donnelly. 2000. "The Mutation Rate In The Human Mtdna Control Region". *The American Journal Of Human Genetics* 66 (5): 1599-1609.
- Slabbert, Nandi, and Laura Jane Heathfield. 2018. "Ethical, Legal And Social Implications Of Forensic Molecular Phenotyping In South Africa". *Developing World Bioethics* 18 (2): 171-181.
- Spichenok, Olga, Zoran M. Budimlija, Adele A. Mitchell, Andreas Jenny, Lejla Kovacevic, Damir Marjanovic, Theresa Caragine, Mechthild Prinz, and Elisa Wurmbach. 2011. "Prediction Of Eye And Skin Color In Diverse Populations Using Seven Snps". *Forensic Science International: Genetics* 5 (5): 472-478.
- Suarez, Philippe, Karine Baumer, and Diana Hall. 2021. "Further Insight Into The Global Variability Of The OCA2-HERC2 Locus For Human Pigmentation From Multiallelic Markers". *Scientific Reports* 11 (1).

- Sulem, Patrick, Daniel F Gudbjartsson, Simon N Stacey, Agnar Helgason, Thorunn Rafnar, Kristinn P Magnusson, and Andrei Manolescu et al. 2007. "Genetic Determinants Of Hair, Eye And Skin Pigmentation In Europeans". *Nature Genetics* 39 (12): 1443–1452.
- Tan, Jingze, Yajun Yang, Kun Tang, Pardis C. Sabeti, Li Jin, and Sijia Wang. 2013. "The Adaptive Variant EDARV370A Is Associated With Straight Hair In East Asians". *Human Genetics* 132 (10): 1187-1191.
- Valenzuela, Robert K., Miquia S. Henderson, Monica H. Walsh, Nanibaa' A. Garrison, Jessica T. Kelch, Orit Cohen-Barak, and Drew T. Erickson et al. 2010. "Predicting Phenotype From Genotype: Normal Pigmentation". *Journal Of Forensic Sciences* 55 (2): 315-322.
- van Oven, Mannis, Anneleen Van Geystelen, Manfred Kayser, Ronny Decorte, and Maarten HD Larmuseau. 2013. "Seeing The Wood For The Trees: A Minimal Reference Phylogeny For The Human Y Chromosome". *Human Mutation* 35 (2): 187-191.
- Vidaki, Athina, David Ballard, Anastasia Aliferi, Thomas H. Miller, Leon P. Barron, and Denise Syndercombe Court. 2017a. "DNA Methylation-Based Forensic Age Prediction Using Artificial Neural Networks And Next Generation Sequencing". *Forensic Science International: Genetics* 28: 225-236.
- Vidaki, Athina, Celia Díez López, Elena Carnero-Montoro, Arwin Ralf, Kirsten Ward, Timothy Spector, Jordana T. Bell, and Manfred Kayser. 2017b. "Epigenetic Discrimination Of Identical Twins From Blood Under The Forensic Scenario". *Forensic Science International: Genetics* 31: 67-80
- Vidaki, Athina, Diego Montiel González, Benjamin Planterose Jiménez, and Manfred Kayser. 2021. "Male-Specific Age Estimation Based On Y-Chromosomal DNA Methylation". *Aging* 13 (5): 6442-6458.
- Visser, Mijke, Manfred Kayser, and Robert-Jan Palstra. 2012. "HERC2 Rs12913832 Modulates Human Pigmentation By Attenuating Chromatin-Loop Formation Between A Long-Range Enhancer And The OCA2 Promoter". *Genome Research* 22 (3): 446-455.
- Visser, Mijke, Robert-Jan Palstra, and Manfred Kayser. 2014. "Human Skin Color Is Influenced By An Intergenic DNA Polymorphism Regulating Transcription Of The Nearby BNC2 Pigmentation Gene". *Human Molecular Genetics* 23 (21): 5750-5762.
- Walsh, Susan, Fan Liu, Andreas Wollstein, Leda Kovatsi, Arwin Ralf, Agnieszka Kosiniak-Kamysz, Wojciech Branicki, and Manfred Kayser. 2013. "The HirisPlex System For Simultaneous Prediction Of Hair And Eye Colour From DNA". *Forensic Science International: Genetics* 7 (1): 98-115.
- Walsh, Susan, Fan Liu, Kaye N. Ballantyne, Mannis van Oven, Oscar Lao, and Manfred Kayser. 2011. "Irisplex: A Sensitive DNA Tool For Accurate Prediction Of Blue And Brown Eye Colour In The Absence Of Ancestry Information". *Forensic Science International: Genetics* 5 (3): 170-180.
- Walsh, Susan, Lakshmi Chaitanya, Krystal Breslin, Charanya Muralidharan, Agnieszka Bronikowska, Ewelina Pospiech, and Julia Koller et al. 2017. "Global Skin Colour Prediction From DNA". *Human Genetics* 136 (7): 847-863.

- Walsh, Susan, Lakshmi Chaitanya, Lindy Clarisse, Laura Wirken, Jolanta Draus-Barini, Leda Kovatsi, and Hitoshi Maeda et al. 2014. "Developmental Validation Of The HIrisPlex System: DNA-Based Eye And Hair Colour Prediction For Forensic And Anthropological Usage". *Forensic Science International: Genetics* 9: 150-161.
- Welch, L.A., P. Gill, C. Phillips, R. Ansell, N. Morling, W. Parson, J.U. Palo, and I. Bastisch. 2012. "European Network Of Forensic Science Institutes (ENFSI): Evaluation Of New Commercial STR Multiplexes That Include The European Standard Set (ESS) Of Markers". *Forensic Science International: Genetics* 6 (6): 819-826.
- Wienroth, Matthias. 2018. "Socio-Technical Disagreements As Ethical Fora: Parabon Nanolab'S Forensic DNA Snapshot™ Service At The Intersection Of Discourses Around Robust Science, Technology Validation, And Commerce". *Biosocieties* 15 (1): 28-45.
- Willuweit, Sascha, and Lutz Roewer. 2015. "The New Y Chromosome Haplotype Reference Database". *Forensic Science International: Genetics* 15: 43-48.
- Wood, Andrew R, Tonu Esko, Jian Yang, Sailaja Vedantam, Tune H Pers, Stefan Gustafsson, and Audrey Y Chu et al. 2014. "Defining The Role Of Common Variation In The Genomic And Biological Architecture Of Adult Human Height". *Nature Genetics* 46 (11): 1173-1186.
- Wyner, Nicole, Mark Barash, and Dennis McNevin. 2020. "Forensic Autosomal Short Tandem Repeats And Their Potential Association With Phenotype". *Frontiers In Genetics* 11 (884).
- Yang, Jian, Beben Benyamin, Brian P McEvoy, Scott Gordon, Anjali K Henders, Dale R Nyholt, and Pamela A Madden et al. 2010. "Common Snps Explain A Large Proportion Of The Heritability For Human Height". *Nature Genetics* 42 (7): 565-569.
- Zhang, Manfei, Sijie Wu, Siyuan Du, Wei Qian, Jieyi Chen, Lu Qiao, and Yajun Yang et al. 2022. "Genetic Variants Underlying Differences In Facial Morphology In East Asian And European Populations". *Nature Genetics* 54 (4): 403-411.
- Zubakov, Dmitry, Anton W. M. Boersma, Ying Choi, Patricia F. van Kuijk, Erik A. C. Wiemer, and Manfred Kayser. 2010. "MicroRNA Markers For Forensic Body Fluid Identification Obtained From Microarray Screening And Quantitative RT-PCR Confirmation". *International Journal Of Legal Medicine* 124 (3): 217-226.
- Zubakov, Dmitry, Fan Liu, Iris Kokmeijer, Ying Choi, Joyce B.J. van Meurs, Wilfred F.J. van IJcken, and André G. Uitterlinden et al. 2016. "Human Age Estimation From Blood Using Mrna, DNA Methylation, DNA Rearrangement, And Telomere Length". *Forensic Science International: Genetics* 24: 33-43.
- Τριανταφυλλίδης, Κωνσταντίνος. 2017. *Οικονομία-Δίκαιο Στη Βιολογία Έμφαση Στη Βιοτεχνολογία*. 2nd ed. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Κυριακίδη.