

BIOMARCADORES PARA LA IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL TIEMPO POSTCOITAL

BIOMARKERS FOR THE IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF POST-COITAL TIME

Gabriel Mayoral-Andrade,^{1,4} Martha Angélica Canseco-Lucero,^{2,1}
Eduardo Pérez-Campos,³ Eduardo Pérez-Campos Mayoral⁴ y
Laura Pérez-Campos Mayoral⁴

Fecha de recepción: 14 noviembre 2016
Fecha de aceptación: 26 noviembre 2017

Resumen - La consumación del acto sexual no deseado o violación es un problema de salud pública en el país. La búsqueda de espermatozoides en la vagina o en la ropa mediante microscopía, determinación de la fosfatasa ácida, búsqueda del antígeno prostático y análisis genéticos son algunas de las pruebas para confirmar una violación. Sin embargo, el lavado de las zonas genitales, la labilidad de las moléculas que se miden, la cantidad insuficiente de material biológico y el elevado costo de algunas pruebas impiden confirmar la agresión, por lo que identificar muestras biológicas o manchas presuntivas de líquido seminal es de suma importancia. Es posible localizar material biológico mediante microscopía de luz, determinación de la fosfatasa ácida, cromatografías, búsqueda de antígeno prostático y análisis genéticos. En esta revisión se pretende agrupar y examinar las principales metodologías para tal propósito.



Palabras clave:

Biomarcadores, líquido seminal.

Abstract - The consummation of the unwanted sexual act or rape is a public health problem in the country. The search for sperm in the vagina or clothing by microscopy, the determination of acid phosphatase, the search for the prosthetic antigen and genetic tests are some of the tests to confirm a violation. However, the washing of the genital areas, the lability of the molecules that are measured, the insufficient amount of biological material and the high cost of some tests, prevent confirming the aggression, so identifying biological samples or presumptive spots of seminal fluid is of the utmost importance. The search for biological material in case of violation can be done by light microscopy, determination of acid phosphatase, chromatography, prosthetic antigen search and genetic analysis. This review aims to group and examine the main methodologies for this purpose.



Keywords:

Biomarkers, seminal fluid.

¹ Facultad de Derecho y Ciencias Sociales UABJO.

² Laboratorio de Patología Clínica "Dr. Eduardo Pérez Ortega".

³ Instituto Tecnológico de Oaxaca.

⁴ Centro de Investigación en Ciencias Médicas y Biológicas, Facultad de Medicina UABJO.
Correo electrónico: laurapcm@prodigy.net.mx

Introducción

Las pruebas para determinar el tiempo postcoital e identificar muestras de semen son limitadas e influenciadas por las acciones que realice la víctima posterior al abuso sexual, como la limpieza de los genitales.

La mayoría de las pruebas utilizadas para identificar líquido seminal presentan, además, la limitante de indicar únicamente si la mancha o el líquido se trata de plasma seminal, pero ninguna de las técnicas o métodos actualmente empleados arroja con exactitud el tiempo aproximado desde la consumación del acto sexual. En este trabajo se realiza una compilación de biomarcadores y técnicas usadas para identificar y determinar dicho tiempo.

Marco teórico

La agresión sexual es un problema de salud pública y atenta contra los derechos humanos. Las mujeres se enfrentan al riesgo de sufrir una violación cuatro veces más que los hombres, en países desarrollados. En México se encontró una prevalencia de 4.6%, no habiendo diferencia estadísticamente significativa en el sexo (Ramos, Saldívar, Medina Rojas y Villatoro, 1998). La edad más frecuente del abuso sexual está entre los 16 y 24 años.

El tipo de victimización corresponde, en orden de frecuencia, a violación, abuso sexual, tentativa de violación y estupro (Khachatryan, Heide, Hummel y Chan, 2014). La detección en muestras biológicas o manchas presuntivas de líquido seminal y su diferenciación de otros fluidos corporales es de suma importancia para confirmar el abuso sexual o en casos de violación (Stefanidou, Alevisopoulos y Spiliopoulou, 2010; Watanabe, Akutsu, Takamura y Sakurada, 2016). Algunas pruebas con que contamos hoy en día son las siguientes.

Microscopía

Las manchas obtenidas en prendas o mucosa vaginal se pueden utilizar para el diagnóstico confirmatorio de

líquido seminal por medio de microscopia, con el objeto de buscar espermatozoides; pero, aunque es altamente específica, es poco sensible. Cuando el líquido seminal es depositado en la vagina, la posibilidad de encontrar espermatozoides depende de que se haya realizado o no limpieza del área genital. Su duración aproximada en el canal endocervical es de 114 horas, en el fondo del saco vaginal de 120 horas, en el rectal de 65 horas, anal de 46 horas y en la boca aproximadamente de seis horas (Christian, Lavelle, De Jong, Loiselle, Brenner y Joffe, 2000).

Fosfatasa ácida

La fosfatasa ácida es una enzima secretada por la glándula prostática; aunque también se puede encontrar en otros fluidos, en ninguno es tan alto como en la secreción prostática. Por ello se ha utilizado como prueba presuntiva de presencia de semen y la identificación del antígeno prostático específico como señal confirmatoria.

El principio de detección se basa en que la fosfatasa ácida cataliza en medio ácido la hidrólisis del alfa-naftil fosfato, que da como resultado alfa-naftol, el cual reacciona con una sal de diazonio (Fast Red, TR), formando un cromógeno púrpura. La cuantificación de fosfatasa ácida es más sensible para detectar líquido seminal que la búsqueda de espermatozoides (Schumann, Badawy, Peglow y Henry, 1976), incluso puede ser un indicador del tiempo aproximado del coito (Findley, 1977).

El lapso promedio en que desaparece la fosfatasa ácida en muestras vaginales varía en diversos estudios realizados y va de 14 horas, hasta otros que indican que se encuentra después de 30 días posterior al coito (Memchoubi, Supriya, Shaini, Sangeeta, Gyaneshwar y Bijoy, 2006).

Antígeno prostático específico

El antígeno prostático específico (PSA) es una glicoproteína de la familia serino proteasas, también conocido como antígeno p30. Es producido por la

glándula prostática y secretado en el líquido seminal, se ha utilizado como biomarcador para demostrar la presencia de fluido seminal (Budowle, Rudin, Gehrig, Borer, Thali y Dirnhofer, 1999). Es posible encontrarlo hasta 27 horas posteriores al acto sexual.

Enzimas y anticuerpos

En algunos estudios se ha realizado la identificación de enzimas y anticuerpos por medio de anticuerpos contra la enzima fucosiltransferasa, presente únicamente en el acrosoma de los espermatozoides. Así se han diferenciado espermatozoides del líquido seminal de fluidos vaginales, orina, saliva u otros líquidos corporales con una alta especificidad (Li, Zhou, Zhu, Cui, Wang, Ding y Pang, 2012).

Igualmente, se ha identificado por medio de anticuerpos contra semenogelina mediante inmunocromatografía, que es una proteína generada en las vesículas seminales, lo que ha resultado tan confiable para localizar líquido seminal como el PSA (Pang y Cheung, 2007).

El antígeno específico de vesículas seminales (SVSA) es otra proteína que, aunque tiene una cierta especificidad, tiene reacción cruzada con algunas proteínas presentes en el fluido vaginal (Chen y Hortin, 2000). En otros trabajos se han expuesto los varios intentos de diferenciar las células vaginales de otros tipos, en especial de las presentes en el líquido espermático mediante inmunohistoquímica, pero han ofrecido muchas limitantes tanto en su especificidad como en la complejidad para realizar el estudio (Fleming y Harbison, 2010).

Fluorogenos

Algunas investigaciones han propuesto reconocer el líquido seminal mediante sustratos fluorogénicos (mu-HSSKLQ-AFC) para el antígeno prostático específico, a fin de detectar y visualizar *in situ* líquido seminal, al mismo tiempo que no afecta la integridad del material genético (Gooch, Daniel y Frascione, 2014).

Cromatografía líquida de alta resolución y espectrofotometría

Como se mencionó anteriormente, las pruebas en las que la identificación del líquido seminal se realiza a través de enzimas y anticuerpos -a pesar de resultados prometedores- tienen sus restricciones debido a la reactividad cruzada que muestran con diferentes fluidos corporales. Por ello se ha propuesto el fraccionamiento proteómico mediante HPLC y espectrofotometría de masas de proteínas que diferencien las proteínas presentes en el líquido seminal de otras localizadas en otros fluidos corporales (Legg, Powell, Reisdorph, Reisdorph y Danielson, 2014; Van Steendam, De Ceuleneer, Dhaenens, Van Hoofstat y Deforce, 2013).

Biología molecular

Es posible analizar el DNA en las muestras recolectadas de semen mediante reacción de cadena de la polimerasa (PCR) o por patrones de fragmentos de restricción (RFLPs). Utilizando RT-PCR múltiple ha sido factible por medio de RNA mensajero el o los genes de origen de muestras biológicas con gran precisión (Zhu, Wang y Zhang, 2013), por lo que se concluye que las diversas moléculas utilizadas como biomarcadores para identificar líquido seminal son diversas; la mayoría de ellas son complejas y para su realización requieren centros especializados, además de que no precisan el tiempo postcoital, por lo que se necesita estudiar otros biomarcadores que pudieran brindar con mayor precisión este dato.

Referencias

- Budowle, B., Rudin, O., Gehrig, C., Borer, U., Thali, M. y Dirnhofer, R. (1999). Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. *Hochmeister. J Forensic Sci.*, 44(5), 1057-1060.
- Chen, J. T. y Hortin, G. L. (2000). Interferences with semen detection by an immunoassay for a seminal

vesicle-specific antigen. *J Forensic Sci.*, 45(1), 234-235.
Christian, C. W., Lavelle, J. M., De Jong, A. R., Loiselle, J., Brenner, L., y Joffe, M. (2000). Forensic Evidence Findings in Prepubertal Victims of Sexual Assault. *Pediatrics*, 106. doi: 10.1542/peds.106.1.100

Findley, T. P. (1977). Quantitation of vaginal acid phosphatase and its relationship to time of coitus. *Am J Clin Pathol*, 68(2), 238-242.

Fleming, R. I. y Harbison, S. (2010). The development of a mRNA multiplex RT-PCR assay for the definitive identification of body fluids. *Forensic Sci Int Genet*, 4(4), 244-256.

Gooch, J., Daniel, B. y Frascione, N. (2014). Application of fluorescent substrates to the *in situ* detection of prostate specific antigen. *Talanta* 125, 210-214. doi: 10.1016

Khachatryan, N., Heide, K. M., Hummel, E. V. y Chan, H. C. (2014). Juvenile Sexual Homicide Offenders: Thirty-Year Follow-Up Investigation. *Int J Offender Ther Comp Criminol*. doi: 10.1177/0306624X14552062.

Legg, K. M., Powell, R., Reisdorph, N., Reisdorph, R. y Danielson, P. B. (2014). Highly Specific Protein Markers for the Identification of Biological Stains. *Electrophoresis*. doi: 10.1002

Li, F. R., Zhou, Y. S., Zhu, L. H., Cui, H. G., Wang, B. J., Ding, M. y Pang, H. (2012). Distribution specificity of human fucosyltransferase 5 and its expression and localization in spermatids. *Fa Yi Xue Za Zhi*, 28(2), 112-4, 119.

Memchoubi, Ph., Supriya, K., Shaini, L., Sangeeta, N., Gyaneshwar, V. y Bijoy, S. (2006). Study of Acid Phosphatase Activity in Post Coital Subjects. *JIAFM*, 28(1), 18-19.

Pang, B. C. y Cheung, B. K. (2007). Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. *Forensic Sci Int*. 169(1), 27-31.

Ramos Lira, L., Saldívar Hernández, G., Medina Mora, M. E., Rojas Guiot, E. y Villatoro

Stefanidou, M., Alevisopoulos, G. y Spiliopoulou, C. (2010). Fundamental issues in forensic semen detection. *West Indian Med J.*, 59(3), 280-283.

Schumann, G. B., Badawy, S., Peglow, A. y Henry, J. B. (1976). Prostatic acid phosphatase. Current assessment in vaginal fluid of alleged rape victims. *Am J Clin Pathol*, 66(6), 944-952.

Van Steendam, K., De Ceuleneer, M., Dhaenens, M., Van Hoofstat, D. y Deforce, D. (2013). Mass spectrometry-based proteomics as a tool to identify biological matrices in forensic science. *Int J Legal Med.*, 127(2), 287-298.

Velázquez, J. (1998). Prevalencia de abuso sexual en estudiantes y su relación con el consumo de drogas. *Salud Pública*, 40, 221-233.

Watanabe, K., Akutsu, T., Takamura, A. y Sakurada, K. (2016). Evaluation of a blood-specific DNA methylated region and allele-specific blood identification from mixed body fluid DNA. *Leg Med*, 22, 49-53.

Zhu, Y. Y., Wang, C. y Zhang, C. N. (2013). MicroRNAs in seminal plasma: an update. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 19(11), 1039-1042.