



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



**TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN Y  
CONFIRMACIÓN DE LÍQUIDO SEMINAL  
EN MANCHAS RECOLECTADAS EN EL  
LUGAR DE LOS HECHOS**

**TESIS**

Que para obtener el título de:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO**

PRESENTA:

**DIEGO ARMANDO CORONA MARTÍNEZ**

México D.F. Marzo 2010

Asesor: Q.F.B. José Oscar González Moreno



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# DEDICATORÍA

**A mis padres:** al Sr. Arturo Corona Alcántara y a la Sra. Ana María Martínez de Corona, que me enseñaron a ser un hombre honesto y responsable, gracias por todo el apoyo que me brindaron por que con su amor y amistad me enseñaron que se puede luchar por los sueños, aún con adversidades, solo les puedo decir que todos los sacrificios serán recompensados y que gracias a ellos soy lo que soy, espero nunca defraudarlos y llenarlos siempre de satisfacciones.

**A mis abuelos:** tanto de parte de mi madre como de mi padre, gracias por que debido a su entusiasmo y orgullo hacia mí, me hicieron poner mi mejor esfuerzo a la escuela y a la carrera que tanto quiero, gracias a Dios por permitirme darme el gusto de que vieran graduarse a su nieto, gracias a su experiencia y sabiduría en parte también les debo la persona que soy hoy en día.

**A mis hermanos:** Jessica y Juan Carlos porque aún siendo menores que yo, me ayudaron como confidentes y me hacían reír en aquellos momentos en los que la carrera más me absorbía y por el hecho de ser mis amigos.

# AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesina el QFB José Oscar González Moreno y a mi revisora QFB Alicia Cabrera Aguilar por el apoyo en la realización de la misma ya que debido a sus correcciones, ayuda y propuestas bibliográficas se pudo consolidar la redacción e información de la misma.

A mis profesores de la Facultad de Estudios Superiores porque gracias a sus enseñanzas, presiones, exámenes y tareas me hicieron ser un mejor estudiante y querer superarme día con día.

A mis amigos y compañeros de desvelos, risas, tristezas, satisfacciones, caídas no solo de la universidad, si no de la preparatoria también, porque si no fuera por ellos tal vez no lo habría logrado, ya que es bien sabido que la amistad es un sentimiento único y eso me sirvió como incentivo para poder lograrlo.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MARCO TEÓRICO.....	4
I. APARATO REPRODUCTOR MASCULINO.....	4
A. Órganos internos.....	4
1. Epidídimo.....	4
2. Conducto deferente.....	5
3. Vesículas seminales.....	5
4. Conducto eyaculador.....	5
5. Próstata.....	5
6. Uretra.....	6
7. Glándulas bulbouretrales.....	6
8. Cuerpo esponjo.....	7
9. Cuerpo cavernoso.....	7
B. Órganos externos.....	7
1. Pene.....	7
2. Escroto.....	9
II. LÍQUIDO SEMINAL.....	10
A. Características generales.....	10
B. Composición del líquido seminal.....	12
C. Edad de producción del líquido seminal.....	13
D. Lugar de formación del líquido seminal.....	13
E. Fracciones de líquido seminal en la eyaculación.....	15
F. Espermatozoides.....	16
1. Estructura.....	16
2. Función.....	18
G. Antígeno Prostático Específico.....	18
III. ACTO SEXUAL MASCULINO.....	20
A. Elemento psíquico de la estimulación sexual masculina.....	21
B. Integración del acto sexual masculino en la médula espinal.....	21
C. Etapas del acto sexual masculino.....	21
1. Erección.....	21
2. Lubricación.....	23
3. Emisión y eyaculación.....	23
IV. DELITOS SEXUALES.....	25
A. Tipos de coito y lesiones producidas.....	26
1. Coito vaginal.....	27
2. Coito anal.....	29
3. Coito bucal.....	30
C. Concepto legal. Código Penal Federal.....	30

1. Artículos con relación al hostigamiento sexual, estupro y violación.....	30
2. Penalidades.....	32
D. Signos médicos legales de la violación.....	32
1. Estudio centrado en el agresor. ....	32
2. Estudio centrado en la víctima.....	34
3. Violación por vía vaginal.....	35
4. Violación por vía anal.....	38
V. ESTUDIO DE MANCHAS DE LÍQUIDO SEMINAL.....	39
A. Antecedentes históricos.....	39
B. Levantamiento y embalaje de muestras.....	41
C. Examen macroscópico de la mancha.....	44
D. Técnicas de orientación.....	44
1. Fluorescencia a la luz ultravioleta.....	44
2. Técnica de la Fosfatasa ácida.....	45
3. Técnica por inhibición de la fosfatasa acida seminal y vaginal, con acido L-Tartárico.....	48
4. Determinación cuantitativa de la fosfatasa acida prostática en huellas y manchas de líquido seminal.....	50
5. Reacción de Florence.....	50
6. Reacción de Barberio.....	51
E. Técnicas de confirmación.....	51
1. Descripción de espermatozoides.....	52
2. Técnicas de tinción.....	52
VI. ESTUDIO DEL MATERIAL GENÉTICO (DNA) PROVENIENTE DE MUESTRAS DE LÍQUIDO SEMINAL.....	58
A. Introducción.....	58
B. Muestras de semen.....	61
1. Contaminación y degradación de la muestra.....	61
2. Técnicas de Extracción.....	62
3. Técnicas de Cuantificación.....	67
4. PCR (Reacción de la cadena de la polimerasa.....	70
5. Técnicas para determinar el genotipo.....	72
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	74
OBJETIVOS.....	75
METODOLOGÍA.....	76
IMPORTANCIA DE ESTUDIO.....	77
LIMITACION DEL ESTUDIO.....	77
TIPO DE ESTUDIO.....	77
ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.....	78
CONCLUSIONES.....	82
REFERENCIAS.....	84

## **RESUMEN**

El siguiente trabajo pretende hacer una recopilación de información ordenada y actualizada sobre las principales técnicas utilizadas en el ámbito Forense, para identificar si una mancha aparentemente de líquido seminal encontrada en el lugar de los hechos, es efectivamente de este fluido corporal, lo cual se hace con las denominadas técnicas de orientación, una vez que se sabe que aparentemente se trata de líquido seminal se realizan las pruebas confirmatorias que incluyen principalmente la identificación de células reproductivas masculinas(espermatozoides). También se pretenden mencionar algunas ventajas y desventajas de dichas técnicas y cuáles son las técnicas más recientes en el estudio de identificación de líquido seminal. Cabe destacar que en ocasiones no siempre se confirma la presencia de espermatozoides por una posible vasectomía o degradación bacteriana, lo cual se puede determinar por una reacción antígeno-anticuerpo y que se tratara de manera superficial en este trabajo. La investigación se realizará en diferentes bibliotecas relacionadas con el ámbito Forense, hasta que se adquiriera la información necesaria para cumplir con el objetivo de la Tesina.

## INTRODUCCIÓN

Desde hace mucho tiempo se trato de estudiar los caracteres físicos y químicos que pueden proporcionar las diversas clases de manchas, lo que conlleva hoy en día a la aplicación de técnicas que permitan su identificación y ayudar a los peritos en su dictamen.

Hoy en día es mayor el número de delitos que se cometen contra el pudor y se efectúan con más frecuencia en las grandes urbes por lo que en México fue necesaria la creación de una oficina especial que atienda este tipo de ilícitos.

El esperma puede ser encontrado por el perito en la vagina, en el recto, en las ropas, en vello púbico, semejado pincelaciones de colodión, en los muslos, etc., y aun en el suelo.

Es de primordial interés contar con una metodología rápida, eficiente y de fácil realización, que resuelva estos casos, como factor determinante de la indagación judicial.

La mancha de esperma solo nos indica una cosa, eyaculación o espermatorrea (escurrimiento seminal), pero nunca nos podrán, por si, informar si se trata de una violación, abuso sexual o acceso carnal por cualquier vía, caricia, pérdidas seminales, que integran un acto consentido.

El líquido seminal, la sangre y los pelos casi son siempre testigos mudos de las agresiones sexuales, o sea, de los delitos que atentan contra la libertad sexual.

El trabajo policial se ve frecuentemente solicitado a determinar en los delitos sexuales contra las personas, manchas sospechosas de líquido seminal. Su aspecto macroscópico induce frecuentemente a error, siendo necesario recurrir a las pruebas de laboratorio para obtener el resultado verdadero. Circunstancias tan variadas exigen del laboratorio especializado el empleo de técnicas adecuadas condicionadas a la naturaleza, cantidad, antigüedad, etc., de la muestra a analizar.

El perito debe conocer cómo, cuándo y qué debe pedir al enviar la muestra y al mismo tiempo saber la forma en que debe recoger, envasar y transportarla al



laboratorio. Con la muestra sospechosa se procede en el laboratorio a verificar, mediante pruebas de orientación y de certidumbre, si es líquido seminal.

En el caso de que el agresor presente azoospermia se emplean otro tipo de técnicas como la determinación de p30 o la presencia del Antígeno Prostático Específico (APE), el cual se realiza mediante un ensayo de electroforesis, obteniendo resultados confiables debido a su alta sensibilidad y por lo tanto en los delitos sexuales otorgar un dictamen certero.

## MARCO TEÓRICO

### I. APARATO REPRODUCTOR MASCULINO

El aparato reproductor masculino está compuesto por órganos internos y externos. Los órganos externos constan del pene y del escroto básicamente. Este último es una bolsa de piel que cuelga de la región pélvica y da alojamiento a los testículos. Los órganos internos están conformados por el epidídimo, conducto deferente y eyaculador, vesículas seminales, próstata, glándulas bulbouretrales y la uretra.

#### A. Órganos internos

**1. Epidídimo.** También llamado gavón, es un tubo estrecho y alargado, situado en la parte posterior superior del testículo; conecta los conductos deferentes al reverso de cada testículo. Está constituido por la reunión y apilotonamiento de los conductos seminíferos. Se distingue una cabeza, cuerpo y cola que continúa con el conducto deferente. Tiene aproximadamente 5 cm de longitud por 12 mm de ancho. Está presente en todos los mamíferos machos.

El epidídimo si fuera estirado alcanzaría unos 6 metros. Los conductos del epidídimo están revestidos con epitelio cilíndrico pseudoestratificado y recubiertos por capa de músculo liso. En él se almacenan los espermatozoides para que adquieran movilidad y su estructura definitiva; estos pueden permanecer ahí hasta cuatro semanas. Las superficies libres de las células cilíndricas contienen microvellosidades y ramificaciones que se llaman estereocilios.

Desde el punto de vista funcional, los conductos del epidídimo son los responsables tanto de la maduración como de la activación de los espermatozoides

(los cuales requieren entre 10 y 14 días para terminar su maduración, es decir, para ser capaces de fertilizar un óvulo). Además, el epidídimo es el sitio de almacenamiento de los espermatozoides y de reabsorción de los que no sean eyaculados.

**2. Conducto deferente.** Estos constituyen parte de la anatomía masculina de algunas especies, incluyendo la humana. Son un par de tubos musculares rodeados de músculo liso, cada uno de 30 cm aproximadamente, que conectan el epidídimo con los conductos eyaculatorios intermediando el recorrido del líquido seminal entre éstos.

Durante la eyaculación los tubos lisos se contraen, enviando el líquido seminal a los conductos eyaculatorios y luego a la uretra, desde donde es expulsado al exterior. La vasectomía es un método de anticoncepción en el cual los vasos deferentes son cortados. Una variación moderna, que también es popularmente conocida como vasectomía aunque no incluye cortar los conductos consiste en colocar un material que obstruya el paso del líquido seminal a través de aquéllos.

Una de las consecuencias de la fibrosis quística es la ausencia de los vasos deferentes, dejando infértil al 100% de los varones que la sufren.

**3. Vesículas seminales.** Secretan un líquido alcalino viscoso que neutraliza el ambiente ácido de la uretra. En condiciones normales el líquido contribuye alrededor del 60% del líquido seminal. Las vesículas o glándulas seminales son unas glándulas productoras de aproximadamente el 3% del volumen del líquido seminal situadas en la excavación pélvica. Detrás de la vejiga urinaria, delante del recto e inmediatamente por encima de la base de la próstata, con la que están unidas por su extremo inferior.

**4. Conducto eyaculador.** Los conductos eyaculatorios constituyen parte de la anatomía masculina; cada varón tiene dos de ellos. Comienzan al final de los vasos deferentes y terminan en la uretra. Durante la eyaculación, el líquido seminal pasa a través de estos conductos y es posteriormente expulsado del cuerpo a través del pene.

**5. Próstata.** Es un órgano glandular del aparato genitourinario, exclusivo de los hombres, con forma de castaña, localizada enfrente del recto, debajo y a la salida de la vejiga urinaria. Contiene células que producen parte del líquido seminal que protege y nutre a los espermatozoides contenidos en el líquido seminal.

La glándula prostática aporta:

- Antígeno específico de la próstata
- Ácido cítrico
- Fibrinógeno
- Espermina
- Zinc (Zn, de propiedades bactericidas)
- Magnesio
- Enzimas:
  - Fosfatasa ácida
  - Fibrinolisisina
  - Transglutaminasa (en roedores, densifica el líquido seminal de manera que genera un tapón vaginal, evitando la salida del líquido seminal, así como la cópula por parte de otro macho)
  - Otras

Justo encima y a los lados de la glándula prostática se encuentran las vesículas seminales que producen la mayoría del líquido seminal. La próstata rodea la primera parte de la uretra, conducto por el que circula la orina y el líquido seminal hasta el pene.

Las hormonas masculinas estimulan la glándula prostática desde el desarrollo del feto. La próstata continúa su crecimiento hasta que se alcanza la edad adulta y mantiene su tamaño mientras se producen las hormonas masculinas. Si las hormonas masculinas desaparecen, la glándula prostática no puede desarrollarse y reduce su tamaño, a veces hasta casi desaparecer

**6. Uretra.** Es el conducto por el que discurre la orina desde la vejiga urinaria hasta el exterior del cuerpo durante la micción. La función de la uretra es excretora en ambos sexos y también cumple una función reproductiva en el hombre al permitir el paso del líquido seminal desde las vesículas seminales que abocan a la próstata hasta el exterior.

**7. Glándulas bulbouretrales.** También conocidas como glándulas de Cowper, son dos glándulas que se encuentran debajo de la próstata y su función es secretar un líquido alcalino que lubrica y neutraliza la acidez de la uretra antes del paso

del líquido seminal en la eyaculación. Este líquido puede contener espermatozoides (generalmente arrastrados), por lo cual la práctica de retirar el pene de la vagina antes de la eyaculación no es un método anticonceptivo efectivo.

**8. Cuerpo esponjoso.** Es la más pequeña de las tres columnas de tejido eréctil que se encuentran en el interior del pene (las otras dos son los cuerpos cavernosos). Está ubicado en la parte inferior del miembro viril.

Su función es la de evitar que, durante la erección, se comprima la uretra (conducto por el cual son expulsados tanto el líquido seminal como la orina). Cuando el pene se encuentra en dicho estado, contiene solamente el 10% de la sangre; los cuerpos cavernosos absorben el 90% de la misma.

El glande (también conocido como cabeza del pene) es la última porción y la parte más ancha del cuerpo esponjoso; presenta una forma cónica.

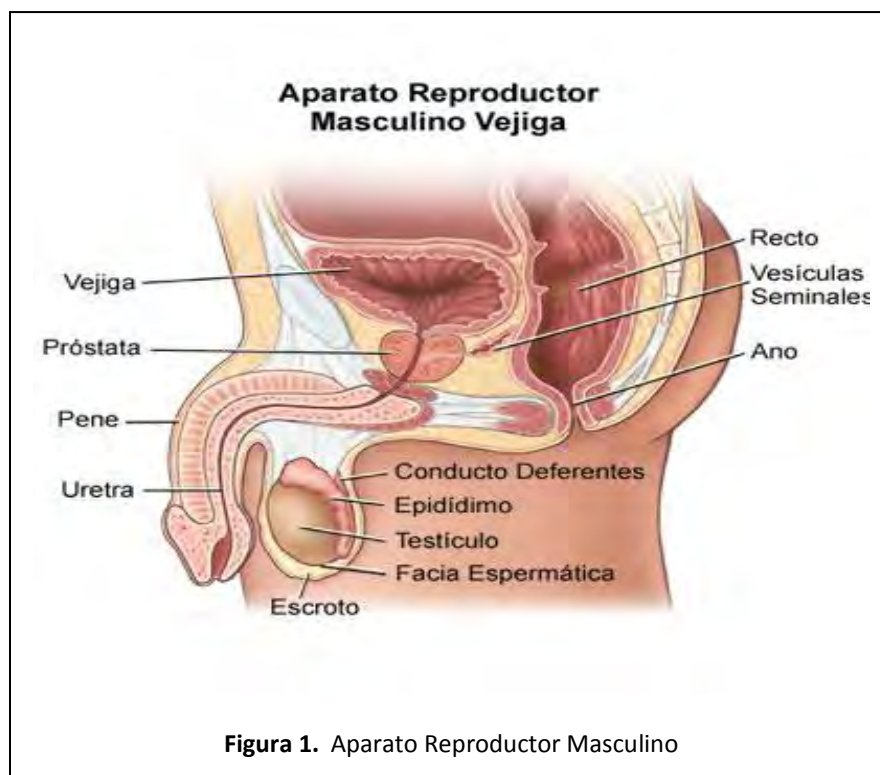
**9. Cuerpo cavernoso.** Constituyen un par de columnas de tejido eréctil situadas en la parte superior del pene, que se llenan de sangre durante las erecciones.

## **B. Órganos externos**

**1. Pene.** Está conformado por tres columnas de tejido eréctil: dos cuerpos cavernosos y un cuerpo esponjoso. Los primeros se encuentran uno al lado del otro en la parte superior del pene, mientras que el último se ubica en la parte inferior.

El glande, una zona muy sensible, constituye el final del cuerpo esponjoso y la parte más ancha del mismo. Tiene forma de cono y está recubierto por un pliegue de piel suelta, el prepucio, que puede ser retirado hacia atrás, para dejar el glande expuesto, o puede incluso eliminarse a través de una sencilla intervención quirúrgica (la circuncisión, muy útil en casos de fimosis o de parafimosis). El área de la parte inferior del pene de donde se sujeta el prepucio se llama frenillo.

La uretra es una vía común para el paso de la orina y del líquido seminal, atraviesa el cuerpo esponjoso y termina en un orificio conocido con el nombre de meato urinario, el cual se encuentra en el extremo del glande. El espermatozoides (hasta ese punto aún no se denomina líquido seminal) es producido en los testículos y almacenado en el epidídimo. Durante la eyaculación, el espermatozoides es propulsado hacia los vasos deferentes. Los fluidos son agregados por las vesículas seminales. Los vasos deferentes desembocan en los conductos eyaculatorios, los cuales se unen a la uretra dentro de la próstata. Ésta última y las glándulas bulbouretrales (también conocidas con el nombre de glándulas de Cowper) adhieren secreciones y, por último, el líquido seminal es expulsado a través del orificio del pene.



Las arterias y venas penetran en los cuerpos cavernosos y el cuerpo esponjoso, que son cavidades largas que se ubican a lo largo del pene. La erección ocurre cuando los pequeños músculos de las arterias permiten que los cuerpos cavernosos se llenen de sangre, mientras que otros músculos de las venas bloquean el drenaje de la misma.

El pene humano alcanza su estado erecto llenándose de sangre, por lo cual carece de báculo, el cual también es conocido como *os penis* un hueso que se encuentra en el pene de muchas especies de mamíferos y cuya función es la de hacer posible la erección. En el ser humano, el pene no puede retirarse dentro de la ingle y es más largo que el promedio del reino animal, en proporción a la masa corporal.

**2. Escroto.** Es un conjunto de envolturas que cubre y aloja a los testículos y vías excretoras fuera del abdomen en los mamíferos machos y en el varón. Esta zona de la piel tiene forma de saco o bolsa, está cubierta de vello de tipo genital y presenta características particulares que la diferencian de la que cubre al resto del organismo.

## II. LÍQUIDO SEMINAL

El líquido seminal es un líquido viscoso y blanquecino que es expulsado a través del pene durante la eyaculación. Está compuesto por espermatozoides (de los testículos) y plasma seminal (de las glándulas vesicales, de la próstata y de las glándulas bulbouretrales).

### A. Características generales

El volumen promedio de líquido seminal de una eyaculación es de 1.5 a 5 mililitros, con máximo de 15 mL. Depende mucho de la abstinencia sexual y del nivel de excitación durante la actividad sexual. El color de este líquido, es normalmente blancuzco o blanco lechoso o levemente amarillento, por las flavinas provenientes de la vesícula seminal. Si el líquido eyaculado presenta un color anaranjado o rojizo, es posible que contenga sangre, signo que se conoce como *hematospermia*, que puede indicar un trastorno urológico.

El líquido seminal suele tener una consistencia de coágulo, debido a la facilidad de gelificación que posee gracias al fosfato de espermina y otras proteínas similares al fibrinógeno. Es frecuente la aparición de grumos más sólidos, pero ello no es indicativo de ninguna clase de problemas.

El olor es peculiar y variable en cada individuo, en función de múltiples factores. Se trata de características que incluyen un fuerte componente subjetivo y emocional. Para unas personas es desagradable y para otras es excitante. Algunas personas reconocen un sabor dulzón y afrutado, debido a las proteínas alcalinas. El aroma puede ser muy intenso.

El pH del líquido seminal es de alrededor de 7.5, dándole un carácter básico. La densidad promedio de los espermatozoides en el líquido seminal varía de 50 a 150



millones por mililitro, por lo que cada eyaculación contiene entre 20 a 150 millones por milímetro cúbico de espermatozoides.

En caso de infección del organismo, el líquido seminal puede llegar a contener altas concentraciones de virus o microorganismos como, por ejemplo, el VIH (que provoca el SIDA), por lo que el método de protección más efectivo es el de barrera (condón o preservativo).



**Fig. 2.** Muestra macroscópica de líquido seminal

Debido a la composición del líquido seminal, en condiciones adecuadas, los espermatozoides pueden permanecer vivos fuera del organismo durante varios días. También sobreviven durante cierto tiempo en los conductos excretores después de la muerte. Se han llegado a encontrar gametos masculinos vivos en la trompa de Falopio y en el útero varios días después del coito. Pueden almacenarse en estado congelado con nitrógeno líquido durante meses o años, ya que mantienen su capacidad fertilizante tras la congelación o criopreservación. Debido a esta última característica, es posible la inseminación artificial y la fecundación in vitro con líquido seminal congelado o criopreservado.

## **B. Composición del líquido seminal**

Menos de 10% del volumen del líquido seminal de una eyaculación corresponde a los espermatozoides. Entre los elementos que componen el líquido seminal se encuentran los líquidos que aporta la vesícula seminal: La vesícula seminal aporta entre el 40% y el 60% del líquido seminal y crea principalmente:

- fructosa
- Prostaglandinas (E2, A, B)
- aminoácidos
- fósforo
- potasio
- hormonas

La próstata aporta de 15% a 30% del plasma seminal, crea un líquido rico en:

- ácido cítrico
- carnitina
- fosfatasa alcalina
- calcio
- sodio
- zinc
- potasio
- enzimas para la separación de las proteínas y fibrolisina

El último elemento que se agrega al líquido seminal es un fluido que secretan las glándulas uretrales (Glándulas uretrales de Cowper y Littré) y bulbouretrales, que representan el 3% al 6% del líquido seminal, segrega una proteína espesa, clara y lubricante conocida como moco.

## **C. Edad de producción del líquido seminal**

El líquido seminal comienza a producirse a partir de la pubertad y tiene las características del adulto a partir de los 12-14 años en la mayoría de los adolescentes. La cantidad producida aumenta con la edad hasta un nivel máximo que depende de cada individuo, luego disminuye a medida que el varón envejece. No obstante, se producen líquido seminal y espermatozoides durante toda la vida adulta del varón. El plasma seminal activa a los espermatozoides, dándole una mayor movilidad.

## **D. Lugar de formación del líquido seminal**

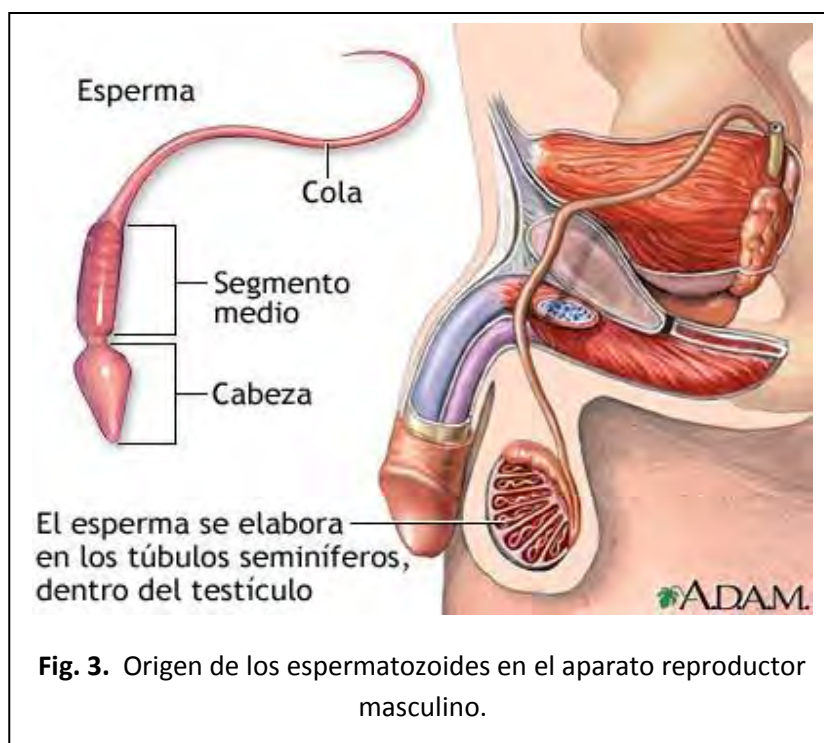
Los lugares donde se forma el líquido seminal son:

**Túbulos seminíferos, de los testículos:** aquí se forman los espermatozoides durante un proceso que se llama *espermatogénesis* (Figura 3), influido por una hormona llamada *testosterona* y por la hormona estimulante del folículo. Al principio los espermatozoides carecen de movilidad y avanzan gracias a los movimientos peristálticos de estos túbulos. Pero, según van avanzando, se van diferenciando y adquieren movilidad. LH Y FSH

**Epidídimo:** aquí los espermatozoides son retenidos durante mucho tiempo (10 a 14 días), recorriendo su trayecto largo y tortuoso lentamente e impulsados por las contracciones peristálticas del músculo liso de la pared de este conducto. En el epidídimo los espermatozoides aumentan su capacidad fertilizante. Es el lugar principal de almacenamiento de los gametos masculinos.

**Conductos deferentes:** apenas contienen espermatozoides; su función, con su gruesa capa muscular, es la de transportar rápidamente el líquido seminal durante el coito, hacia la uretra.

**Vesículas seminales:** producen una densa secreción que contribuye de manera muy importante al volumen del eyaculado, que oscila entre el 46% y el 80%, siendo ésta la última parte del líquido seminal en salir en una eyaculación. Esta secreción es rica en fructosa, que es el azúcar principal del líquido seminal y proporciona los hidratos de carbono utilizados como fuente de energía de los espermatozoides móviles. También contiene pequeñas cantidades de un pigmento amarillo, flavinas en su mayor parte, que aportan al líquido seminal una fuerte fluorescencia a la luz ultravioleta, que tiene mucho interés en medicina legal para la detección de manchas de líquido seminal en una violación.



**Próstata:** Aporta la segunda parte del contenido del líquido seminal en una cantidad abundante que oscila entre el 13% y el 33% del volumen total del eyaculado. El líquido prostático es rico en enzimas (fosfatasas) y en ácido cítrico. La próstata produce el fosfato de espermina, un compuesto poliamínico presente en cantidad abundante en el líquido seminal humano. Cuando el líquido seminal se enfría y comienza a secarse, esta sustancia forma los cristales de Böttcher.

**Uretra bulbar:** contiene las glándulas de Cowper, actualmente conocidas como *glándulas bulbouretrales*, y *de Littré*, que también secretan un líquido lubricante al líquido seminal, poco abundante pero rico en mucoproteínas, siendo la primera parte del eyaculado. Facilitan la lubricación de la uretra que recorre el pene para el paso del líquido seminal a gran velocidad hacia el exterior, gracias a la contracción de los músculos bulbouretrales.

Cuando se realiza una prostatectomía radical en caso de un cáncer de próstata, se extirpa la próstata, las vesículas seminales y se ligan los conductos deferentes. El líquido seminal producido en las gónadas masculinas se acumula en el epidídimo y en los conductos deferentes, reabsorbiéndose allí mismo.

### **E. Fracciones de líquido seminal en la eyaculación**

Durante la eyaculación podemos distinguir diferentes fracciones:

**Primera fracción preeyaculatoria:** Esta fracción, corresponde del 10% al 15% del volumen total, es de consistencia mucosa, transparente y no presenta espermatozoides. Procede de las secreciones de las glándulas de Cowper y Littré. La acción de esta fracción es hacer más resbaladizo el canal de la uretra.

**Segunda fracción previa:** Es fluida y sigue sin presentar espermatozoides ya que presenta un pH ácido, elevada concentración de fosfatasa ácida y ácido cítrico, y estas no son unas condiciones óptimas para el desarrollo de los gametos masculinos. Procede de la próstata. Representa entre el 13% y el 33% de la fracción total.

**Tercera fracción principal:** Presenta elementos líquidos y gelatinosos. Procede del epidídimo y de los conductos deferentes. Es la fracción que contiene a los espermatozoides. Representa entre el 5% y el 10% de la fracción total.

**Cuarta fracción terminal:** De consistencia gelatinosa o coloide. Procedente de las vesículas seminales. Tiene un pH alcalino y fructosa, razón por la cual hay presentes espermatozoides, aunque la mayoría inmóviles. Contiene fructosa que es el principal

nutriente de los espermatozoides. Representa entre el 50% y el 60% de la fracción total.

## **F. Espermatozoides**

Un espermatozoide es una célula haploide que constituye el gameto masculino de los animales, y su función es la formación de un cigoto totipotente al fusionarse su núcleo con el del gameto femenino, fenómeno que dará lugar, posteriormente, al embrión y al feto. En la fecundación humana, los espermatozoides determinan el sexo a la nueva célula diploide, pues pueden llevar cromosoma sexual x o y, mientras que el óvulo lleva sólo el cromosoma x. Fueron identificados por primera vez en 1679 por Antoni van Leeuwenhook, inventor de los primeros microscopios potentes.

### **1. Estructura.**

**a. La cabeza.** Es la parte fecundadora, es la parte más importante del espermatozoide ya que contiene la carga genética (23 cromosomas, en el pronúcleo) que unidos a los 23 del óvulo dan lugar a la célula madre formando 46 cromosomas agrupados en pares. Por tanto, es la parte que se inserta en el óvulo en la fecundación. A esta parte de la cabeza se la conoce como el acrosoma.

El acrosoma tiene enzimas, como la hialuronidasa y la acrosina que facilitan la penetración, debilitando mediante la degradación de las paredes del óvulo, concretamente, la zona pelúcida que rodea al ovocito. Esto facilita la fusión de la parte de la membrana del espermatozoide que contacta con la membrana del ovocito, de tal modo que se abre un canal al interior del óvulo.

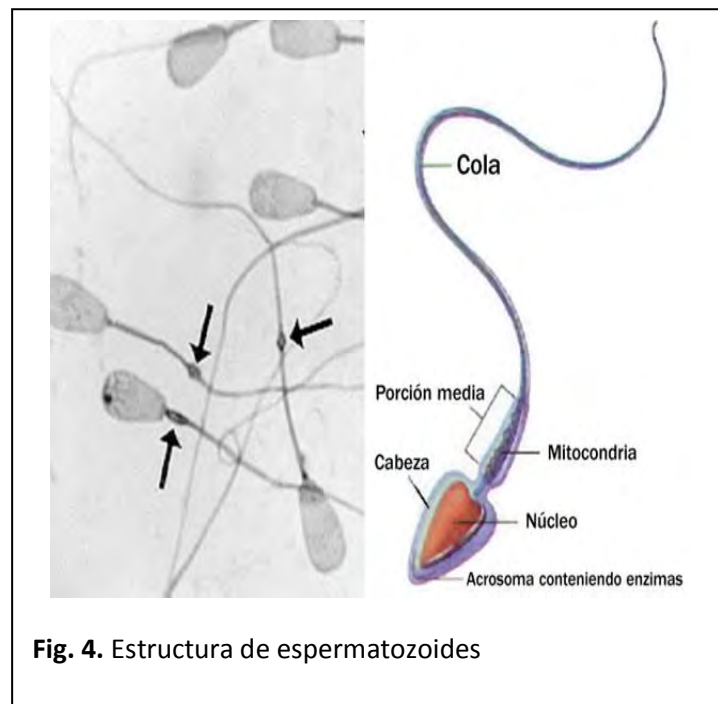
El espermatozoide entra desnudo de su membrana al interior del óvulo, dejando atrás la membrana ya vacía. Por tanto, todas las mitocondrias del cigoto son maternas.

Tanto el pronúcleo como el acrosoma están envueltos en medio de una pequeña cantidad de citoplasma y revestidos por una membrana plasmática que une la cabeza al cuerpo del espermatozoide.

En los seres humanos la medida de la cabeza del espermatozoide es de 5µm (micrómetro) de longitud.

**b. El cuerpo.** Une la cabeza y la cola. En el encontramos el almacén de energía del espermatozoide gracias a la presencia de mitocondrias que son las encargadas de proporcionar energía para que puedan moverse y llegar a alcanzar el óvulo. Esta energía se obtiene mediante la producción de ATP (adenosina trifosfato).

**c. La cola o flagelo.** Es la parte final del espermatozoide y la encargada de proveerle movilidad. De este modo y mediante el movimiento de la cola o flagelo los espermatozoides son capaces de moverse y ascender a través del cuello uterino hacia las trompas de Falopio donde pueden encontrar el óvulo. Dentro de las trompas de Falopio los espermatozoides avanzan 1-2 cm, por hora aproximadamente. En los seres humanos, la cola de los espermatozoides es de 50 µm de longitud.



**2. Función.** Durante el acto sexual, el líquido seminal es depositado en la vagina. Este líquido contiene alrededor de 300 a 500 millones de espermatozoides que, en la vagina, avanzan más o menos a 1.0 cm por hora, mediante movimientos originados por su cola o flagelo.

Muchos espermatozoides van quedando en el camino ya que mueren; otros, se desorientan, y algunos otros se dirigen a las Trompas de Falopio, donde no existe óvulo.

Finalmente, los espermatozoides llegan hasta el óvulo, y solo uno de ellos logra fecundarlo. El encuentro de la célula sexual femenina y la célula sexual masculina se realiza en el primer tercio de las trompas de Falopio, que es la parte más cercana al ovario.

El espermatozoide ha de realizar por tanto un recorrido de unos 18.0 cm desde la vagina hasta las trompas de Falopio, donde podrá fecundar al óvulo. El tiempo que tarda en llegar el espermatozoide al óvulo se calcula que puede ser desde 10 minutos hasta 3 días.

El espermatozoide al llegar al óvulo es capaz de fecundarlo rompiendo la barrera exterior del óvulo, de forma que la fusión de ambos gametos (femenino y masculino) da lugar al cigoto, que mediante el proceso de multiplicación celular va desarrollándose en lo que conocemos como el proceso del embarazo.

## **G. Antígeno Prostático Específico**

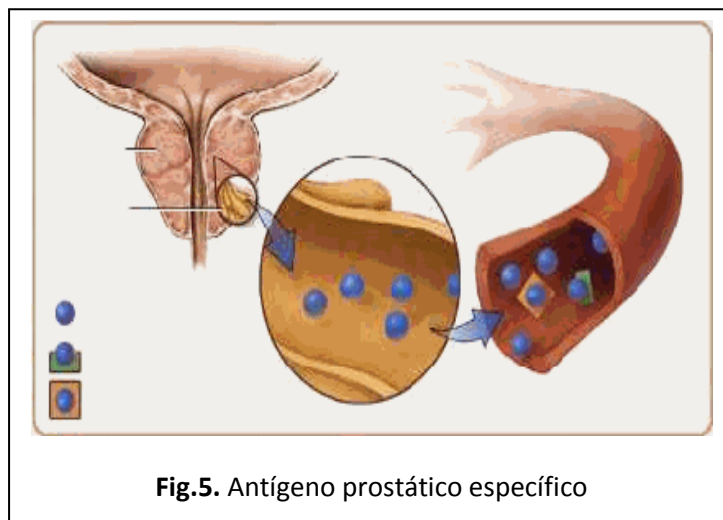
El antígeno prostático específico (frecuentemente abreviado por sus siglas como APE), es una sustancia proteica sintetizada por células de la próstata y su función es la disolución del coágulo seminal. Es una proteína de síntesis exclusiva en la próstata. Una pequeñísima parte de este APE pasa a la circulación sanguínea de hombres enfermos, y es precisamente este APE que pasa a la sangre, el que se mide para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento del cáncer -tanto localizado como



metastásico- y otros trastornos de la próstata, como la prostatitis. Los niveles normales en sangre de APE en los varones sanos son muy bajos, del orden de millones de veces menos que el líquido seminal, y se elevan en la enfermedad prostática. Los valores de referencia para el APE sérico varían según los distintos laboratorios, aunque normalmente éstos se sitúan en 4 ng/mL. Su producción depende de la presencia de andrógenos y del tamaño de la glándula prostática.

El antígeno prostático específico (APE), también llamado calicreína III, seminina, líquido seminalogelasa,  $\gamma$ -seminoprotein y **antígeno P-30**, bioquímicamente es una glicoproteína de 34 kD producida casi exclusivamente por la glándula prostática. El APE es producido con el fin de licuar el líquido seminal eyaculado y permitir un medio para que los espermatozoides se movilen libremente. También se cree que es útil para disolver la capa mucosa cervical, permitiendo la entrada a los espermatozoides. Bioquímicamente, el APE es una enzima serín-proteasa, el gen del cual está localizado en el cromosoma 19.

El APE aumenta con el agrandamiento de la próstata, llamada también hiperplasia benigna de próstata o HBP, fenómeno que ocurre en muchos hombres conforme van avanzando en edad. También puede aumentar en caso de irritación, prostatitis -que es una inflamación de la glándula prostática- y el infarto prostático. El APE también podría aumentar normalmente y lentamente conforme avanza la edad del hombre, incluso si la próstata es normal. La eyaculación puede provocar temporalmente un aumento en la sangre de los niveles del APE.



### III. ACTO SEXUAL MASCULINO

La fuente más importante de impulsos para iniciar el acto sexual masculino es el glande del pene, que contiene un sistema sensitivo de órganos terminales muy organizados, transmisores hacia el sistema nervioso central de una modalidad muy especial de sensación llamada sensación sexual. La acción de masaje sobre el glande en el curso del coito estimula los órganos terminales sensitivos, y las sensaciones sexuales, a su vez, siguen por los nervios pudendos, de ahí a través del plexo sacro hacia la porción sacra de la médula espinal, y, finalmente, subiendo por la médula a zonas indefinidas del cerebro. Pueden penetrar también impulsos en la médula espinal procedentes de zonas vecinas del pene para ayudar a estimular el acto sexual. Por ejemplo, al ser estimulados, epitelio anal, escroto, estructuras perineales en general, todos mandan impulsos a la médula, que se suman a la excitación sexual. Las sensaciones sexuales pueden incluso originarse en estructuras internas como zonas irritadas de uretra, vejiga, próstata, vesículas seminales, testículos y conductos diferentes. De hecho, una de las causas del "impulso sexual" probablemente sea la repleción excesiva de los órganos sexuales con secreción.

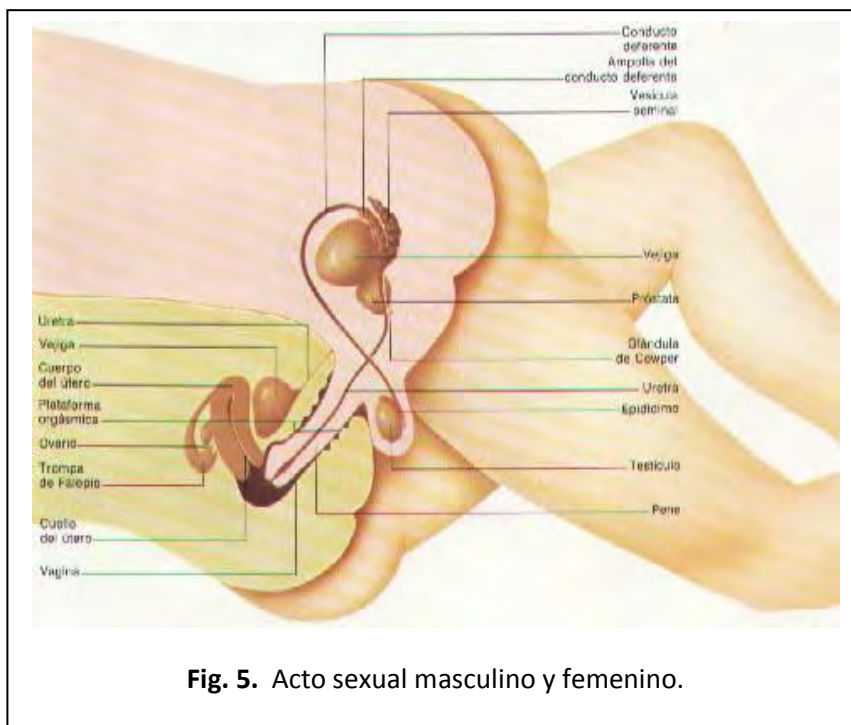


Fig. 5. Acto sexual masculino y femenino.

## **A. Elemento psíquico de la estimulación sexual masculina**

Estímulos psíquicos adecuados pueden aumentar considerablemente la capacidad de una persona de llevar a cabo el acto sexual. Simples pensamientos sexuales, o incluso sueños en los cuales se está efectuando el coito, pueden hacer que se produzca el acto sexual masculino y termine en eyaculación. De hecho, las emisiones nocturnas durante los sueños se producen en muchos varones en diversas etapas de su vida sexual, especialmente en la adolescencia.

## **B. Integración del acto sexual masculino en la médula espinal.**

Aunque generalmente intervienen factores psíquicos desempeñando papel muy importante en el acto sexual masculino, y de hecho pueden iniciarlo, probablemente el cerebro no sea necesario para llevarlo a cabo, pues una estimulación genital adecuada puede causar eyaculación en los animales, y a veces en el hombre, después que han sufrido la sección de la médula espinal por encima de la región lumbar. El acto sexual masculino resulta, pues, de mecanismos reflejos integrados en médula espinal y lumbar, que pueden iniciarse por estimulación psíquica o por estimulación sexual verdadera.

## **C. Etapas del acto sexual masculino**

**1. Erección.** Se conoce como **erección** al estado en el que el pene se vuelve rígido y aumenta de tamaño, debido a que su tejido interno (cuerpos cavernosos) se

llena de sangre, dicho de otra forma es el primer efecto de la estimulación sexual masculina; el grado de erección es proporcional al grado de estimulación, tanto física como psíquica. La erección es producida por impulsos parasimpáticos, que siguen por los nervios erectores desde la porción sacra de la médula espinal al pene. Estos impulsos parasimpáticos dilatan las arterias del pene, y probablemente al mismo tiempo constriñen las venas, permitiendo que la sangre arterial circule a presión elevada hacia el tejido eréctil del pene. El tejido eréctil es simplemente un conjunto de voluminosos sinusoides venosos cavernosos, que normalmente se hallan bastantes vacíos, pero pueden dilatarse enormemente cuando la sangre arterial penetra en ellos a presión, pues hay oclusión parcial del retorno venoso. Los cuerpos eréctiles también están rodeados de cubiertas fibrosas muy resistentes; por tanto, la presión elevada dentro de los sinusoides hace que se dilate el tejido eréctil al punto que el pene se endurece y se alarga.

Las erecciones suelen ser consecuencia de la excitación sexual, aunque también se presenta en ocasiones en las que no existe estimulación táctil ni psicológica.

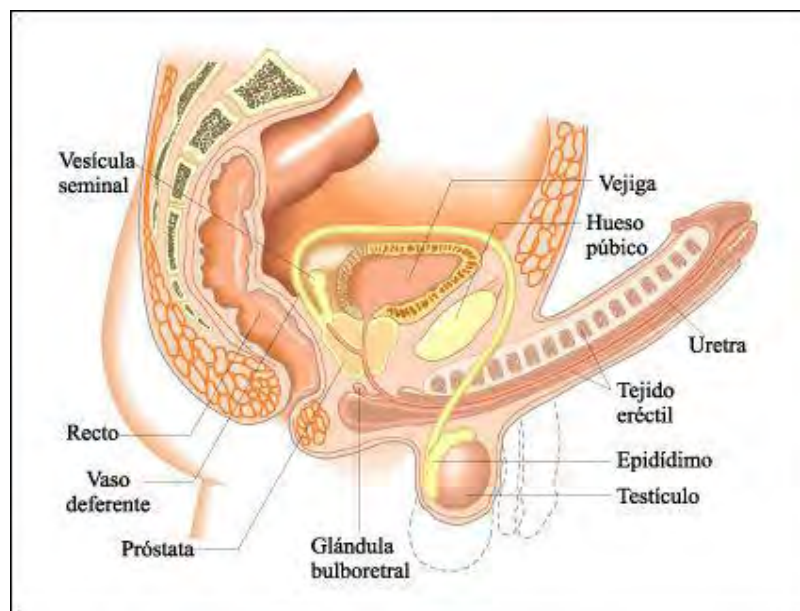


Fig. 6. Erección del pene.

La erección hace posible el coito, pero no es indispensable para todas las actividades sexuales. El pene, ya erecto, puede apuntar (ángulo eréctil) hacia arriba, hacia abajo, paralelamente al suelo o en muchas otras direcciones. Estas diferencias en el ángulo eréctil dependen de la tensión del ligamento suspensor que hace que el pene erecto esté en dicha posición. El grado de rigidez del pene de cada individuo también es variable.

**2. Lubricación.** Durante la estimulación sexual, los impulsos parasimpáticos, además de provocar la erección, estimulan la secreción de moco por las glándulas de Littre y las glándulas bulbouretrales. Este moco sigue por la uretra durante el coito para ayudar a la lubricación. Sin embargo, la mayor parte de la lubricación en el coito la proporcionan los órganos sexuales femeninos más que los masculinos. Sin buena lubricación, el acto sexual masculino raramente tiene éxito, porque el coito no lubricado produce impulsos dolorosos que inhiben las sensaciones sexuales en lugar de estimularlas.

**3. Emisión y eyaculación.** Constituyen la culminación del acto sexual masculino. Cuando el estímulo sexual resulta extraordinariamente intenso, los centros reflejos de la médula empiezan a mandar impulsos simpáticos que abandonan la médula y pasan a los órganos genitales siguiendo el plexo hipogástrico para causar eyaculación.

Se cree que la emisión empieza con la contracción del epidídimo, el conducto deferente y la ampolla, provocando la expulsión de espermatozoides hacia la uretra. Luego, contracciones de las vesículas seminales y de la capa muscular de la próstata expelen el líquido seminal y el líquido prostático, impulsando los espermatozoides. Todos estos líquidos se mezclan con el moco ya secretado por las glándulas bulbouretrales para formar el esperma. El proceso hasta este momento se llama de emisión.

El llenado de la uretra desencadena luego las señales que son transmitidas por los nervios pudendos a las regiones sacras de la médula. A su vez, hay impulsos nerviosos rítmicos que se mandan desde la médula a los músculos esqueléticos que rodean la base del tejido eréctil, originando aumentos de presión a este nivel de tipo rítmico, a modo de ondas, que "exprimen" el esperma desde la uretra al exterior. Este es el proceso de eyaculación.

La eyaculación de líquido seminal ocurre cuando el varón alcanza el orgasmo, el cual puede ser el resultado de un coito, de una masturbación, de una felación o de los sueños húmedos. Estos últimos, también llamados emisiones o poluciones nocturnas, son eyaculaciones que se producen de manera involuntaria durante el sueño. Sin embargo, se puede dar orgasmo sin eyaculación (orgasmo seco, por ejemplo, durante el sexo tántrico, el cual permite multiorgasmos en una sola copulación) y eyaculación sin orgasmo.

## **IV. DELITOS SEXUALES**

Los delitos sexuales son una expresión generalmente empleada para referirse a acciones que afectan a personas de cualquier edad y sexo, contra su consentimiento y que perturban su desarrollo sexual, así como psicológico. Cabe mencionar que como actividad sexual se incluye cualquier tipo de penetración, roces o caricias de órganos genitales en contra de la voluntad, o aprovechando la incapacidad de un menor para comprender ciertos actos. También se incluye el inducir u obligar a tocar los órganos genitales del abusador.

Cualquier acción que incite al menor a presenciar contenido sexual impropio (observar al adulto desnudo o mientras mantiene relaciones sexuales con otras personas, ver material pornográfico o asistir a conversaciones de contenido sexual, por ejemplo).

El abuso sexual es definido como cualquier actividad sexual entre dos personas sin consentimiento de una y puede producirse entre adultos, de un adulto a un menor o incluso entre menores.

Dicho de otra forma el abuso sexual es toda conducta o comportamiento que atenta contra los derechos básicos fundamentales de las personas: A la vida, la libertad, la integridad y la dignidad humana. Se manifiesta con conductas agresivas, temporales, o permanentes que buscan lesionar, humillar, degradar, expresar dominio o presión sobre una persona o personas que se encuentran o se colocan en condiciones de inferioridad. Esta asume muchas formas: físicas y psíquicas, por ejemplo cuando alguien:

- Le obliga a tener relaciones sexuales a la fuerza.
- Utiliza el chantaje en la escuela, en la casa y/o en el trabajo para conseguir favores sexuales.
- Le hiere físicamente durante el acto sexual, agrede sus genitales, usa objetos o armas a nivel intravaginal, anal y oral.
- Le obliga a tener sexo con otras personas o le obliga a que vea a otras personas tener relaciones sexuales.

- Le hostiga sexualmente en la calle, en el trabajo, en la casa, en la escuela, en el colegio o en la universidad.
- Le obliga al sexo cuando no está completamente consciente, sin consentimiento o cuando tiene miedo.

Los Tipos de abuso sexual son la violación, que es considerada delito sin importar el sexo de la víctima, y el estupro. En el caso de abuso sexual infantil, los fenómenos que se desencadenan tienen que ver con trastornos en el desarrollo psicosexual. Son conductas reprobadas social y legalmente.

Estos delitos se pueden presentar en las siguientes circunstancias:

**Hostigamiento:** es el asedio reiterado con fines lascivos a persona de cualquier sexo, valiéndose el agresor de una posición jerárquica, derivada de las relaciones laborales, docentes, domésticas o de cualquiera otra índole, que implique subordinación de la víctima.

**Abuso:** es la ejecución de un acto sexual o la presión para ejecutarlo, sin el propósito de llegar a la cópula y sin consentimiento de la persona.

**Estupro:** es la realización de cópula con una persona mayor de 12 años y menor de 18, de la que se obtiene el consentimiento mediante el engaño.

**Violación:** es la realización de la cópula mediante violencia física o moral, con persona de cualquier sexo.

### **A. Tipos de coito y lesiones producidas**

El Código Penal hace referencia expresa a tres posibles vías en el proceso carnal, equiparándolas como la vía vaginal, la anal y la bucal.



El **coito** es la cópula o unión sexual entre dos individuos. En los seres humanos el coito es una parte de la relación sexual, e implica la participación de los órganos genitales externos e internos.

En términos de zoología, es parte del ritual de apareamiento, siendo el momento en el cual, el macho y la hembra de una especie se acoplan, es decir, cuando el falo se introduce en la vagina y deposita allí los gametos masculinos, con el fin de que el gameto femenino pueda ser fecundado.

El orificio genital y/o anal, son lesionados al ingresar un objeto de consistencia dura que actúa como objeto contuso, el cual dependiendo de la fuerza de penetración y de su dimensión ocasionará mucha, poca o ninguna lesión. También dependerá del grado de maduración de los tejidos genitales (y su desarrollo) al momento de la lesión, es obvio que en un infante habrá más lesiones que en una persona adulta.

**1. Coito vaginal.** Consiste en la penetración del pene estando erecto en la vagina como medio para conseguir placer sexual, se consideraría como delito sexual cuando la víctima no está de acuerdo en que suceda y aunque no se complete, ni se prolongue y tampoco haya una eyacuación dentro de la vagina, se considera como tal, de igual forma no es necesario que la mujer sea virgen para la misma consideración.

Los signos físicos que se pueden encontrar van a depender básicamente de tres tenores: la existencia de un himen íntegro (virginidad), la edad de la víctima y la resistencia u oposición.

En el caso de que exista un himen íntegro y la edad de la víctima se encuentre en el periodo de adolescencia o madurez, el signo que se encontrará es el de desfloración.

El himen es una membrana que se localiza en la unión vulvo - vaginal de carácter incompleto (deja casi siempre una luz a la cavidad vaginal), que se rompe con las primeras relaciones sexuales, si bien existen otras causas de desgarros y cualquier elemento que se introduzca en la vagina y que venza la elasticidad del mismo provocará su rotura. El borde libre del himen, el que delimita la luz vaginal, normalmente no es del todo regular teniendo pequeñas hendiduras u ondulaciones que no deben confundirse con los auténticos desgarros.

Existen diversos tipos de hímenes. Según su morfología pueden ser: semilunares, anulares, labiados, etc. Otros han sido llamados atípicos por su escasa frecuencia: biperforados (dejan dos orificios a la cavidad anal), cribiformes (dejan varios y pequeños orificios).

Cuando en una mujer adulta o adolescente virgen se producen las primeras relaciones sexuales, el himen se rompe (hay casos en que esto no ocurre debido a la existencia de un himen llamado complaciente).

La rotura himeneal se acompaña de dolor y hemorragia, que si no hay previamente una patología sanguínea sobre la coagulabilidad nunca es de consideración. La rotura es más frecuente que sea múltiple (en diversos lugares de la membrana), por lo que clásicamente y a efectos meramente descriptivos se utiliza la referencia a una esfera de reloj por lo que se habla por ejemplo de rotura a las 8 y a las 4, lo cual indicaría un desgarro en la posición nº 8 y del nº4 correspondientes a las horas de ese reloj imaginario.

En ocasiones no se produce la rotura del himen a pesar de que éste se encuentre íntegro. Esta eventualidad se da en los casos de los llamados hímenes complacientes que por su riqueza en fibras elásticas, permiten el paso sin que se produzcan desgarros del mismo. La exploración de estos hímenes no está exenta de riesgo, ya que durante su exploración es posible que se pueda ocasionar su rotura, siendo necesario en todo caso su acreditación, para lo cual algunos autores proponen como medida el que sea posible el tacto vaginal bidigital.

La rotura completa del himen, es decir, la existencia de desgarros que llegan hasta el borde adherido a la pared vaginal, es la norma con la penetración del pene. Esto sirve para el diagnóstico diferencial con las muescas o marcas congénitas que no suelen llegar al borde adherido, además éstas tienen contornos más redondeados y con una separación de los bordes más amplia. La luz de Wood puede servirnos para diferenciarlos, ya que en el caso del desgarro, el tejido cicatricial de los bordes se diferencia nítidamente del resto del himen, signo éste que no aparece en las escotaduras o muescas.

Cuando se procede al reconocimiento precoz y en el caso de que haya existido la rotura del himen, encontraremos en éste los desgarros que muestran sus bordes

sangrantes y tumefactos, sin embargo, en el plazo de unos 3 a 4 días se produce la cicatrización (si no han existido complicaciones como problemas por coagulopatías o procesos infecciosos) y a partir de esa fecha ya no es distinguible la data de la rotura y por lo tanto del acceso camal, permaneciendo además la membrana con la misma morfología para el resto de la vida, ya que la cicatrización se produce en cada borde independientemente (a diferencia de lo que ocurre en el resto de los tejidos en los que la cicatrización se produce estableciendo puentes que unen los bordes).

La edad de la víctima es un factor muy importante a la hora de encontrar lesiones en la región genital, ya que hasta que no se haya alcanzado la pubertad, el desarrollo de los genitales tanto externos como internos no permite la cópula normal.

Clásicamente se han establecido tres periodos cronológicos: en niñas menores de seis años, el coito es imposible, pues el ángulo subpúbico es muy agudo. Entre los seis a doce años es posible la cópula, pero debido a la desproporción de los genitales entre agresor (si es adulto) y víctima, casi siempre se acompaña de lesiones de cierta consideración como la rotura del periné o del tabique recto-vaginal. A partir de los doce años es raro que existan lesiones genitales, dándose casi exclusivamente como signo la rotura del himen en caso de ser virgen.

Otra circunstancia que puede determinar la existencia de lesiones sobreañadidas a la rotura himeneal es la brutalidad con que se realice el coito, si bien esto en mujeres adultas no suele entrañar lesiones importantes, aunque en niñas de 6-12 años es un factor importante.

**2. Coito anal.** Es una práctica sexual consistente en la introducción del pene o de un juguete sexual en el ano y el recto de la pareja. Otros términos sinónimos son sodomía y sexo anal. Se conoce la existencia de esta práctica entre primates y cánidos, además de los seres humanos.

El ano es el orificio en el que termina la parte distal del tubo digestivo. Tiene una forma circular cuando está dilatado, mientras que en reposo está completamente cerrado y reducido a una pequeña hendidura. De ella y en dirección radial parten una serie de pliegues que se exageran cuando se contrae el esfínter y desaparecen con su dilatación.

El ano dispone de dos esfínteres: uno externo que es de carácter voluntario y otro interno que es involuntario, que son los responsables del cierre y apertura del ano.

La exploración del ano requiere una postura determinada que se ha llamado de "plegaria mahometana" por remedar la posición que adoptan los mahometanos cuando oran. También se aconseja la posición genu-pectoral.

Dado el carácter contráctil voluntario del esfínter externo, existirán siempre lesiones ante un coito anal no consentido en el que la víctima oponga resistencia, no así si existe dilatación del esfínter.

Las lesiones que se pueden encontrar van desde las fisuras, excoriaciones hasta las auténticas roturas del esfínter, éstas sobre todo vienen condicionadas por la desproporción de los órganos genitales del agresor respecto del tamaño del ano del agredido. Se suele producir la llamada parálisis antiálgica del esfínter. Las lesiones cursan con dolor, escozor, sobre todo, al defecar o deambular, evolucionan hacia la curación en el curso de unos siete días en el caso de las lesiones leves.

**3. Coito bucal.** Es una manifestación parafetichista tanto homosexual como heterosexual, en la cual existe un contacto de la boca o lengua con los genitales según sea el caso (si es hombre con el pene y si es mujer con la vagina).

La utilización de esta vía no deja huellas en la cavidad bucal a excepción de la presencia de espermatozoides que de todas formas es difícil su instalación, aunque siempre se debe proceder a realizar una toma de muestra para su análisis.

## **C. Concepto legal. Código Penal Federal**

### **1. Artículos con relación al hostigamiento sexual, estupro y violación.**

En la legislación penal vigente para el Distrito Federal se denominan: delitos contra la libertad y el normal desarrollo psicosexual. Comprenden los actos verbales o físicos de

contenido sexual que se cometen contra una persona de cualquier edad o sexo sin su consentimiento y, en el caso de los menores de edad, con engaño y afectación de su desarrollo sicossexual, lo cual se señala en los Arts. 259 bis al 266 bis. Código Penal para el D.F.

**Art. 259-bis.** "Al que con fines lascivos asedie reiteradamente a personas de cualquier sexo, aliándose de su posición jerárquica derivada de sus relaciones laborales, docentes, domésticas, o cualquiera otra que implique subordinación, se le impondrá sanción hasta de cuarenta días multa. Si el hostigador fuese servidor público y utilizase los medios o circunstancias que el encargo le proporcione, se le destituirá de su cargo. "

**Art. 265 Relación sexual con un niño.** "Al que por medio de la violencia física o moral realice cópula con persona de cualquier sexo, se le impondrá prisión de ocho a catorce años.

Para los efectos de este artículo, se entiende por cópula, la introducción del miembro viril en el cuerpo de la víctima por vía vaginal, anal u oral, independientemente de su sexo. "

**Art. 266. Relación con uso de violencia.** Se equipara a la violación y se sancionará con la misma pena:

I.- Al que sin violencia malicie cópula con persona menor de doce años de edad.

II.- Al que sin violencia realice cópula con persona que no tenga la capacidad de comprender el significado del hecho o por cualquier causa no pueda resistirla; y

III.- Al que sin violencia y con fines lascivos introduzca por vía anal o vaginal cualquier elemento o instrumento distinto del miembro viril en una persona menor de doce años de edad o persona que no tenga capacidad de comprender el significado del hecho, o por cualquier causa no pueda resistirlo, sea cual fuere el sexo de la víctima. "

III. Otras formas de abuso sexual a menores.

**Art. 266-bis.** "Las penas previstas para el abuso sexual y la violación se aumentarán hasta en una mitad en su mínimo y máximo, cuando:

I. El delito fuere cometido con intervención directa o inmediata de dos o más personas.

II. El delito fuere cometido por un ascendiente contra su descendiente, éste contra aquél, el hermano contra su colateral, el tutor contra su pupilo, o por el padrastro o amasia de la madre del ofendido en contra del hijastro. Además de la pena de prisión, el culpable perderá la patria potestad o la tutela en los casos en que la ejerciere sobre la víctima. "

**Art. 272.** "Se impondrá la pena de uno a seis años de prisión a los ascendientes que tengan relaciones sexuales con sus descendientes.

La pena aplicable a estos últimos será de seis meses a tres años de prisión. Se aplicará esta misma sanción en caso de incesto entre hermanos. "

**2. Penalidades.** Estos delitos contra la libertad y el normal desarrollo psicosexual, se castigan con penas de prisión que van desde 3 meses hasta 21 años, según las agravantes de cada caso, dependiendo de la edad de la víctima, su consentimiento y capacidad psicológica, así como de la violencia física o moral del agresor o del número de atacantes que participen colectivamente.

## **D. Signos médicos legales de la violación**

**1. Estudio centrado en el agresor.** El estudio del agresor debe de abarcar, tanto en lo referente a la esfera psíquica como a la física, así como el estudio analítico de diferentes muestras que se tomen para realizar comparaciones con resultados obtenidos de las muestras procedentes de la víctima.

**a. Esfera física.** Debe de comenzar con el estudio de las ropas que portaba en el momento de la comisión de la agresión, ya que las mismas pueden presentar manchas o vestigios similares a los que presentaba la víctima que son derivados de la perpetración del presunto delito en el lugar de los hechos: manchas de tierra, barro, restos vegetales, etc. A veces incluso pueden aparecer manchas

procedentes de la víctima como sangre en el caso de que ésta tuviese heridas o procedentes del periodo menstrual.

En lo que se refiere al plano corporal, propiamente dicho, se puede encontrar huellas que evidencien la existencia previa de lucha durante la cual la víctima se ha defendido. Estas consisten principalmente en arañazos que pueden afectar a diferentes partes del cuerpo.

Mención especial merece la eventual existencia de lesiones por mordedura en el pene, en los casos de violaciones por la vía bucal. No debe olvidarse el estudio de los genitales en busca de signos de enfermedades venéreas: gonorrea, chancro luético, etc.

**b. Esfera psíquica.** Es preciso proceder a un examen completo de las funciones psíquicas que de ello va a depender el juicio de imputabilidad que se derive, con las consiguientes repercusiones en la responsabilidad y aplicación de penas.

Las posibles combinaciones de estados patológicos mentales y de intoxicaciones en el agresor y víctima son enormes. Por lo tanto es imposible hacer un repaso puntual de todos ellos, por lo que como resumen cabe decir que habría que realizar una cuidadosa valoración individualizada de cada uno y poner en una relación de comparación los resultados.

En cuanto a las patologías o trastornos más frecuentes en los agresores, hemos de señalar la baja incidencia de enfermedad mental en sentido estricto. Lo más frecuente de encontrar entre los violadores son los trastornos de la personalidad, o utilizando una terminología más clásica las psicopatías, y dentro de éstos destaca por su frecuencia el trastorno antisocial (psicópata desalmado) quizá seguido, aunque a distancia, del trastorno esquizoide.

Un factor así mismo muy frecuente de encontrar es la intoxicación, principalmente la derivada de la ingestión de bebidas alcohólicas. Otros tóxicos también a tener en cuenta son todos aquellos que ejercen una acción estimulante como por ejemplo es la cocaína.

Es bastante habitual que exista una combinación de ambos: trastorno de la personalidad más tóxico, ya que éste pone de manifiesto o "dispara" los rasgos caracterológicos con mayor facilidad.

**2. Estudio centrado en la víctima.** Ante la existencia de un delito, en general, es preciso buscar las pruebas encaminadas precisamente a demostrarlo. De esta manera se puede acreditar la perpetración del mismo, pues de no lograrlo, si no existe el delito no existe responsabilidad ni culpabilidad penal.

La violación de una persona (masculina o femenina) es uno de los más graves atentados que se pueden cometer contra una persona, ya incide en una esfera (la sexual) que pertenece, en nuestra cultura, a la más profunda intimidad. La víctima en estos casos tiene una gran gama de sentimientos: odio, rabia, impotencia, deseos de justicia, pero también de asco y repugnancia.

La mayoría de las personas violadas refieren sentirse sucias, lo que les lleva a cambiarse de ropa y lavarse. Estas maniobras pueden hacer desaparecer pruebas que son definitivas para la acreditación de la violación. De ahí la importancia de que las primeras personas que intervengan, que suelen ser policías o ginecólogos, tengan en cuenta estos extremos e inviten a la víctima a no lavarse ni a desaparecer la ropa o lavarla hasta que se hayan tomado las muestras oportunas.

El hecho que se produce con relativa frecuencia es que la víctima acude al hospital, en muchas ocasiones, acompañada por la policía. En el hospital es reconocida por el ginecólogo de guardia. Tras el examen ginecológico, la víctima y en ocasiones, la policía, dan por finalizadas las pruebas de carácter médico y la víctima se ducha, se cambia de prendas las destruye o lava las que portaba en el momento de la agresión sexual. Esto es un error, la finalidad del ginecólogo hospitalario es examinar a la víctima. En algunas ocasiones incluso realiza toma de muestras de fondo saco vaginal, pero el estudio de las mismas se limita a detectar la presencia de espermatozoides, siendo esto un estudio incompleto. Existe otra función muy importante que es la búsqueda de evidencias de violación que no se pueden limitar a la existencia de lesiones ginecológicas, ya que en muchas ocasiones éstas faltan y no por ello se puede concluir que no ha habido una violación. Esta misión le compete al médico forense que por su formación está capacitado para tal cometido.



Por todo ello y en lo que respecta a las labores médicas, los pasos que se deben de dar serían los siguientes: una vez conocida por quien sea (policía, hospital, etc.) la existencia de una violación, la víctima debe de ser reconocida inmediatamente por un médico forense, cuando aún no se ha cambiado de ropa ni lavado, debido a que las huellas de la agresión sexual puede que permanezcan, y si es así, es posible recogerlas para su estudio.

En aquellos lugares donde el médico forense disponga de los medios necesarios para proceder a un reconocimiento de estas características, la víctima debiera desplazarse a una clínica forense. De esta manera se obviaría el paso por el hospital. Sólo en los casos de lesiones importantes sería necesario el traslado al hospital, siendo el médico forense quien indicase tal necesidad.

En los casos en que el médico forense no dispusiera de los medios necesarios para realizar el reconocimiento, la víctima debería ser trasladada al hospital más próximo acudiendo también con el médico forense, para que conjuntamente con el ginecólogo procedieran al reconocimiento cada cual con su función específica.

**3. Violación por vía vaginal.** Asimismo, es aconsejable que al menos el examen ginecológico sea practicado en presencia de otro perito. En algunos casos, sobre todo si se trata de una menor, es mejor realizar la exploración en presencia de algún miembro de la familia.



**Fig. 7.** Desfloración vaginal

**a. La exploración física** de la presunta víctima de violación comienza con una inspección al igual que en cualquier especialista médica asistencial, pese a que la medicina forense tiene esta naturaleza. Así, se podrá observar la actitud de la examinada, su hábito constitucional, su talla, su desarrollo muscular, todo ello con el fin de buscar elementos indiciarios de posibilidad de resistencia. Interesa estudiar en seguida los signos macroscópicos de violencia externa, tanto recientes como antiguos. Para ello es clásico dividir el cuerpo en tres zonas o áreas:

- Zona Genital: Incluye genitales externos, periné y área anorrectal.
- Zona Paragenital: Comprende la zona abdominal infraumbilical, monte de venus, raíz de muslos y zonas glúteas.
- Zona Extragenital: Abarca el resto de las regiones topográficas. Dentro de esta zona es importante destacar el examen en cabeza, mamas, muñecas y piernas.

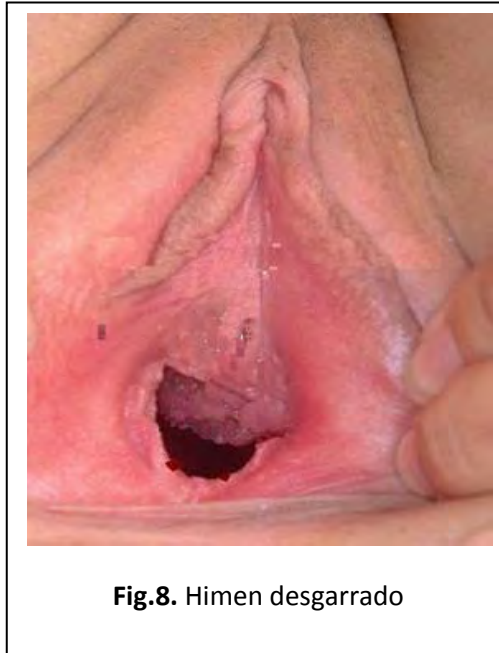
El examen físico debe iniciarse en la zona extragenital, continuar en la paragenital y terminar en la genital.

En ningún caso, el perito debe olvidar que realiza un peritaje en una persona que ha tenido una vivencia muy *sui generis*, que además no es un delincuente, sino la víctima presunta de un delito. Es de buen criterio no tener a la examinada, en ningún momento, completamente desnuda. Inicialmente, se debe examinar el hemicuerpo inferior; y finalmente, el estudio ano rectal estando la persona en posición ginecológica, para realizar el examen ginecológico y en posición de plegaria mahometana.

**b. El estudio del himen** adquiere extraordinaria importancia, a la par que invalorable trascendencia médico-legal y jurídica en los peritajes, de tal forma que aquí se le considerará una barrera anatómica y frontera jurídica del delito de violación, habida cuenta de que, si no se pasa a través del himen o el lugar que debiera ocupar el mismo, no se está frente a una *immissio penis*, pero si se atraviesa dicha válvula se configurará el principal elemento jurídico en el delito de violación: el acceso carnal.

Aparte de las consideraciones de forma normal, anomalías o defectos congénitos, deformaciones, elasticidad o rigidez del himen, al perito le interesa

efectuar el examen en relación a las alteraciones sufridas como consecuencia del acto sexual al que fue sometida la agraviada.



Los médicos legistas, necesariamente en número de dos, practicarán el examen en forma metódica y minuciosamente siguiendo un protocolo. Primero, los órganos sexuales externos y zonas vecinas, con el propósito de descubrir la presencia de lesiones, excoriaciones, equimosis, heridas o secreciones tanto normales como anormales. Posteriormente, pasarán al examen propiamente dicho de la vulva y el himen. Frente a los genitales expuestos y cómodamente colocado el observador, procederá a traccionar con cierta intensidad, con los dedos índice y pulgar de cada mano, los labios menores hacia fuera, exponiendo de esa manera toda la superficie del himen, siguiendo la dirección de las manecillas del reloj, comparativamente, buscará lesiones, desgarros, erosiones, fisuras tanto de la horquilla como de la misma membrana himeneal.

Los desgarros o lesiones que pudieran encontrarse en la membrana del himen pudieran ser recientes o antiguos.

**4. Violación por vía anal.** Para realizar el examen de la zona, la persona por examinar deberá estar en posición de "plegaria mahometana".

Precisamente en el caso de violación por vía anorrectal, es posible determinar, sin temor a equivocarse, si se trata de una relación que no contó con el consentimiento de la víctima, debido a que es completamente distinto el resultado del coito por esta vía del que se logra por vía anterior o vaginal en casos de violación.

Por ello, cuando se encuentran estas lesiones en el reconocimiento anorrectal, se puede concluir con certeza que el coito ha sido no consentido, sin interesar los antecedentes de la víctima, ya que incluso puede ser un homosexual, quien, al resistir la penetración con la contracción esfinteriana, solo podrá ser accedido si median las referidas lesiones.

Además de los signos de violencia señalados en líneas anteriores, se encuentran los denominados parálisis antálgica esfinteriana. Se trata de una dilatación del esfínter, que puede tener un diámetro de 1, 2 y hasta 2.5 cm, que se evidencia frecuentemente, provocada a por el intenso dolor originado en las lesiones existentes.

En casos de lesiones recientes, se puede apreciar en los bordes libres del himen, zonas de congestión, inflamación, fisuras o desgarros que siendo observados en un primer tiempo pueden presentar restos de sangrado o coágulos. Lo expuesto anteriormente suele observarse en forma inmediata a la acción sexual en la virgen y como todo proceso tiene una duración de 8 a 10 días, tiempo en el cual por los mecanismos de reparación y cicatrización actúan, las lesiones tienden a curar y dar la apariencia de lesiones antiguas dificultando el cálculo del tiempo en que fueron producidos. Es de aclarar, que las lesiones en el borde del himen no cicatrizan afrontando los bordes desgarrados, sino en forma independiente, formando retracciones de los colgajos o mamelones.

Luego de realizadas las maniobras necesarias para el examen, el perito consignará en forma sistemática y ordenada, los resultados de su examen, los hallazgos y afines y los consignará en el mismo oficio en el que se solicito el acto pericial, entregando a las autoridades correspondientes para continuar el trámite de rigor.

## **V. ESTUDIO DE MANCHAS DE LÍQUIDO SEMINAL**

Las manchas de líquido seminal son de gran importancia en el caso de perpetración de delitos sexuales tales como la violación, su tentativa, estupro y abuso deshonesto, actos que son seguidos a veces por el homicidio.

En los hechos recientes, el espermatozoide puede hallarse por lo general en los órganos genitales o ano de la víctima, o bien en distintas partes de su cuerpo, y los rastros se encuentran, según el caso, en estado semilíquido, adhesivo, incoloro y de olor alcalino, o bien en forma de escamas o películas muy quebradizas de color claro, ello de acuerdo y según al tiempo transcurrido entre la eyaculación y el acto investigado.

También su hallazgo se produce por lo general en las ropas (casi siempre interiores) de la víctima e imputado, de cama, toallas, pañuelos, géneros diversos (que pudieron haber sido utilizados para limpiarse por la víctima o el imputado), braguetas del pantalón, y en menos ocasiones en medias, zapatos, el piso o paredes. Casi siempre presentan una coloración blanco-grisácea o bien amarillenta, apergaminada, y, especialmente en las telas absorbentes, una forma de mapa, mientras que en los tejidos no absorbentes adquieren un dibujo similar a los rastros que dejan los caracoles a su paso.

### **A. Antecedentes históricos**

Desde hace mucho tiempo se trató de estudiar los caracteres físicos y químicos que pueden proporcionar las diversas clases de manchas, lo que conlleva hoy en día a la aplicación de técnicas que permitan su identificación y ayudar a los peritos en su dictamen.

El primer reporte que se tiene de la existencia de las células espermáticas corresponde a un estudiante de nombre Luis Hamm que en 1667 tuvo la idea de

colocar en el microscopio una gota de líquido seminal humano y observo la multitud de espermatozoides en movimiento, el cual corrió a darle la noticia al famoso Anton Van Leeuwenhok quien más tarde observo células espermáticas de animales como perros, conejos y gallos.

Posteriormente en 1851, un francés de nombre Albert Florence, descubrió una de las primeras técnicas para reconocer huellas de líquido seminal; se basaba en el hecho de que, al tratar una muestra de este espécimen con una solución concentrada de yodo alcalino, se producían cristales rómbicos de color rojo parduzco, formados por la colina libre.

Ya para 1859, con el descubrimiento de los rayos ultravioleta por parte de Kirchhoff y Bunsen, se observo que las manchas de líquido seminal adquirirían bajo esta radiación una fluorescencia azulada. Fishman y Lerner en 1953 dan a conocer su método para estimar fosfatasa acida de origen prostático.

El alemán S. Berg en 1954 describe el empleo del  $\alpha$ -naftil de calcio que reacciona con el esperma, dejando libre  $\alpha$ -naftol, que a su vez reacciona con diazinil tetrasonio formando un colorante azoico violeta.

Kind reporta una técnica para determinar fosfatasa acida seminal en 1964 en la Revista de Ciencia Forense.

G. M. Williot en 1972 incluye en la misma revista un procedimiento por el cual el acido L- tartárico inhibe la fosfatasa seminal y vaginales.

En el año de 1978, Sensabaugh aisló una proteína específica del líquido seminal humano: la proteína P-30 y en 1983 describe un procedimiento para su detección por inmunoensayo.

Indudablemente el paso decisivo en la Serología Forense en el siglo XX fue el descubrimiento del DNA celular, esto ya para el año de 1989, técnica mediante la cual, una vez identificada la muestra de líquido seminal, es posible individualizarla a través de su patrón genético.

## **B. Levantamiento y embalaje de muestras**

Tratar de documentar si en el lugar se observan manchas de esperma o sangre, o si existen signos de haberse producido lucha. En algunos casos el delito ocurre en un lugar privado al que la víctima no ha podido tener acceso y al que ha sido llevada con engaño, violencia o amenaza. Si es coincidente el detalle de este sitio por parte de la víctima con la inspección ocular realizada, tendremos documentado un indicio de gran valor. Las manchas de esperma o sangre deben ser levantadas y secuestradas para las correspondientes pericias, al igual que con prendas, toallas u otros efectos que puedan hallarse con las mismas manchas.



**Fig.9.** Levantamiento de manchas de líquido seminal en ropa

Por razones obvias, las manchas de esperma en los cuerpos, especialmente de la víctima, deben ser levantadas por el médico. Por lo general, en vagina y ano se procede previamente a un lavado con suero fisiológico, que luego se recoge y se envasa convenientemente en tubos de ensayo o frascos de vidrio, limpios, sin ninguna

otra sustancia, y en lo posible se remiten con urgencia al laboratorio. Para todo esto debe tenerse en cuenta lo que manifiesta la víctima, ya que son diversas las formas de actuar en estos delitos de acuerdo al grado de degeneración que reviste el autor del hecho y la parte del cuerpo en donde prefiere eyacular. En ocasiones eligen hacerlo en la cabeza, entre los cabellos. Si así fuere, es preferible cortarlos en su parte manchada y remitirlos al laboratorio, también convenientemente envasados en tubos de ensayo o frascos de vidrio.

A fin de evitar la destrucción del espermatozoide, las prendas secuestradas con manchas que se presumen de esperma deben ser manipuladas convenientemente, evitando en lo posible los dobleces en esas partes. Las grandes, tales como sábanas, se acondicionarán convenientemente sin ser cortadas en sus partes maculadas; es decir, se remitirán completas. La mejor forma de embalaje es colocarla entre dos cartones duros, procediendo luego a envolverla en lo posible con papel madera de buena consistencia. Cuando estuviere aún húmeda, se la dejará secar previamente a su embalaje, a temperatura ambiente.



**Fig. 10.** Equipo para recogida de manchas de líquido seminal



Cuando por el tamaño ello no fuera posible y la mancha ya se hallare seca, se procederá a sacarla mediante el suave raspado de un cuchillo o elemento similar, y se dispondrá en tubos de ensayo o frascos de vidrio para su remisión al laboratorio.

Es de importancia examinar las prendas íntimas, ropa de cama, pañuelos, ropa interior de la víctima o "macerando" la mancha en suero fisiológico o raspando la mancha u obteniendo muestra (extendido) de secreción vaginal o manchas sospechosas de región perineal para ulterior examen en laboratorio. Para la maceración de la mancha, se toma esta o sus fracciones colocándola en una luna de reloj con el líquido de maceración (suero fisiológico, agua destilada). También en manchas secas puede detectarse con una fuente de luz ultravioleta portátil pues son fluorescentes bajo estos rayos. Todos estos se embalan en bolsas de plástico y con su etiqueta correspondiente la cual debe contener los siguientes puntos:

- Numero de averiguación previa o expediente
- Fecha y hora en que se recolecto la evidencia
- Nombre de la persona a quien se le tomo
- Nombre del investigador que realizo la toma.

El procedimiento como tal de la recolección de la muestras en casos en los que la víctima este viva se toma en tres ocasiones tanto de la cavidad vaginal como anal con hisopos estériles y colocándoos en tubos de ensaye estériles.

Después de tomada la primera muestra se hace un frotis y se le hace pasar una llama con un encendedor, si se está en el lugar de los hechos. Posteriormente se introducirá ese mismo aplicador en su tubo y se le añaden 2 mL de solución salina estéril, tapando el tubo de inmediato. Esta muestra será muy útil para la observación microscópica en fresco.

La segunda muestra tomada con el hisopo se humedecerá con unas gotas de solución salina y se colocara en otro tubo, con el cual se buscara la presencia de fosfatasa acida y su cuantificación si es posible.

La tercera muestra tomada bajo las mismas condiciones se destinara para futuras aclaraciones o confrontas. En los cadáveres se tomaran muestras iguales bajo

las mismas condiciones pero lo más rápido posible para evitar la acción de la putrefacción sobre las mismas.

### **C. Examen macroscópico de la mancha**

**Color y aspecto.** Al estado fresco: líquido filante blanco, lechoso, ligeramente amarillento y que al desecarse se torna de color amarillo. Colocado en placa tiene un aspecto heterogéneo con pequeños grumos. A 37°C lo transforma en líquido y homogéneo.

Opacidad: Es opaco y se hace más transparente al licuarse por calentamiento.

Olor: *sui generis* atribuido a la secreción prostática.

Con la práctica lo frecuente es hallarlo en estado seco:

- Sobre la piel forma débiles películas brillantes de aspecto barnizado.
- Sobre las telas o papel higiénico: toma el aspecto de "mapa geográfico" de bordes limpios, irregulares, color grisáceo "almidonado" al tejido.

### **D. Técnicas de orientación**

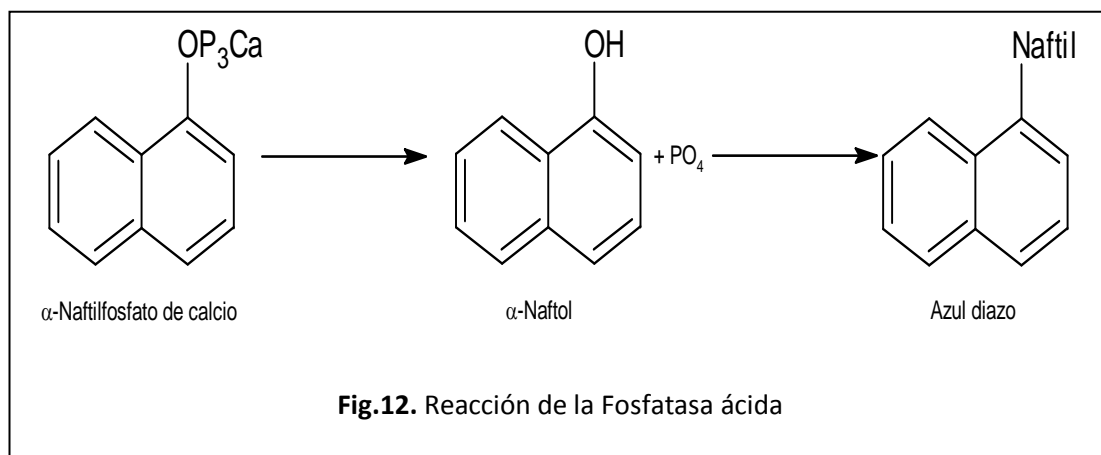
**1. Fluorescencia a la luz ultravioleta.** Debido a que el líquido espermático contiene altas concentraciones de flavinas, esto hace que aparezca la fluorescencia blanco verdosa en el líquido seminal cuando las manchas de este se observan con luz ultravioleta. Por lo tanto este método es de gran utilidad para la localización topográfica de posibles huellas espermática, tanto en el lugar de los hechos como en prendas de vestir.



**2. Técnica de la Fosfatasa ácida.** La fosfatasa ácida se encuentra en animales y vegetales, debido a que es una enzima que tiene a hidrolizar los ésteres alifáticos y aromáticos del ácido ortofosfórico.

En fluidos corporales se sabe que en el líquido seminal se encuentra a altas concentraciones, por esta razón la presencia de líquido seminal en manchas sospechosas se puede detectar por el hallazgo de fosfatasa ácida.

Su detección se basa en una reacción cromática de la enzima fosfatasa ácida, muy abundante en la secreción genital masculina.



La fosfatasa acida del esperma reacciona con el reactivo 1-naftilfosfato de calcio y queda libre alfa naftol; este reacciona con sulfato de dianisiltretazonio y forma un colorante azoico violeta intenso.

Aunque no obstante no solo en el líquido seminal existen altas concentraciones de fosfatasa acida, es importante señalar que una prueba positiva no es concluyente para afirmar que una mancha es de líquido seminal ya que puede encontrarse en otros tejidos y plantas.

Kind Hauck y Leithoff propusieron la siguiente lista de productos y especímenes que también lo contienen:

**Tabla 1. Productos y especímenes en los que también se encuentra la Fosfatasa ácida.**

<b>Principales compuestos</b>		
Bacterias	Exudado vaginal	Semillas de alfalfa
Leche humana	Glóbulos rojos	Veneno de víbora
Hígado humano	Cereal de arroz	Almendras dulces
Orina humana	Coliflor	Caracoles
Riñón humano	Trébol	Moho de hongos

Por tantos compuestos en los que se encuentra la fosfatasa acida, se infiere el por qué dicha técnica está catalogada como una reacción de orientación y por lo tanto la presencia de líquido seminal deberá confirmarse con el hallazgo de los espermatozoides. Es por eso que esta es la principal desventaja de la técnica ya que no puede dar un dictamen definitivo en lo relacionado a los delitos sexuales.

**a. Preparación de reactivos**

**Tabla 2. Reactivos y cantidades empleadas en la prueba de la fosfatasa ácida.**

Solución 1	Cantidad	Solucion2	Cantidad	Solución A	Cantidad	Solución B	Cantidad
Nacl	23 gr	1-Naftil Fosfato De Calcio	50.0 gr	Orto Dianisidina Tetratzotizada	1.0 gr	Alfa Naftil Fosfato De Sodio	0.8 gr
Acetato Sodio Trihidratado	2.0 gr	Sulfato De Dianisil Tetrasonio	30.0 gr	Acetato De Sodio	20 gr	Agua Destilada	10mL
Acido Acético Glacial	0.5mL	Lauril Sulfato De Sodio 10%	1.0 ML	Acido Acético	10mL		

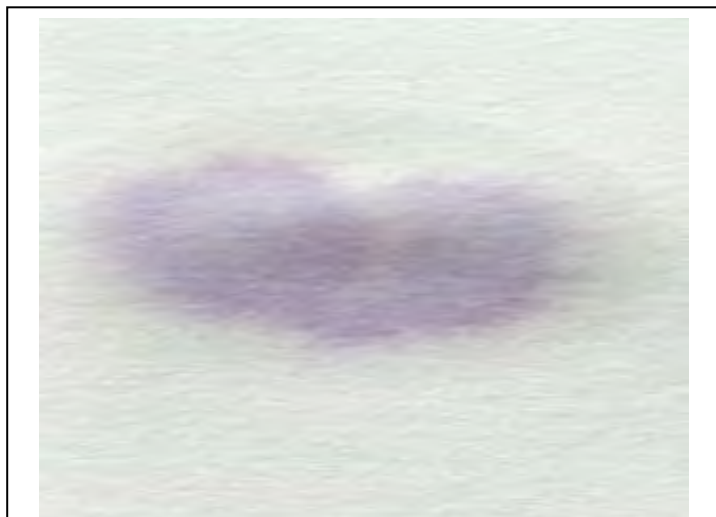
<b>Agua Destilada</b>	90.0 mL	<b>Agua Destilada</b>	100mL
-----------------------	---------	-----------------------	-------

Reunir la solución 1 y 2, filtrar y envasar el frasco ámbar y se guarda en refrigeración a 4 C. esta solución se conserva activa durante un año. Actualmente ya no se fabrica el sulfato de dianisiltetrazonio se ha sustituido por la solución 3 la cual se prepara mezclando 10 mL de solución A, 89 mL de agua destilada y 1 mL de la solución B, se guarda en frasco ámbar y en refrigeración.

**b. Procedimiento.** La mancha problema o el hisopo con el cual se tomo la muestra se coloca entre dos hojas de papel filtro; lo mismo se hace con material igual no manchar para prueba en blanco y con otro que este maculado con liquido seminal como testigo positivo.

Se colocan sobre una lamina de vidrio en la que previamente se habrá anotado: testigo negativo; muestra problema y testigo positivo. Inmediatamente después se agregan aproximadamente 10 gotas de reactivo a cada una de las muestras, con una pipeta Pasteur.

**c. Interpretación de resultados.** La aparición de una coloración intensa en la prueba problema, dentro de un tiempo no mayor a 5 minutos indicara la presencia de fosfatasa acida en cantidades mayores a 20 U.K.A. y por lo tanto la muy posible presencia de liquido seminal; en el testigo positivo siempre deberá observarse la intensidad de color ya mencionada, tonalidad que no deberá aparecer en el testigo negativo.



**Fig.13.** Prueba positiva a la fosfatasa ácida

**3. Técnica por inhibición de la fosfatasa acida seminal y vaginal, con acido L-Tartárico.** Como su nombre lo indica nos dice que tanto las fosfatasas seminales como vaginales son inhibidas por el acido L-Tartárico. Se forma un precipitado violeta intenso con tamaño de partícula, de origen no prostático. El sustrato de este procedimiento es el  $\alpha$ -naftil fosfato de calcio.

El  $\alpha$ -naftil se incuba con la muestra problema y con un testigo de líquido seminal, ambos a un pH de 4.9, la enzima fosfatasa en caso de estar presente, rompe el radical fosfato liberando el grupo alfa naftol, el cual reacciona con el azul diazo formando un complejo de color violeta. A otro lote igual de muestras se les añade el sustrato de  $\alpha$ -naftil fosfato, pero ahora adicionado de L-tartárico: si la fosfatasa ácida es de origen prostático, el L-tartrato inhibe la reacción de copulación.

**a. Preparación de reactivos**

**Tabla 2. Reactivos y cantidades empleadas en la prueba de inhibición fosfatasa ácida.**

Solución 1	Cantidad	Solución 2	Cantidad	Solución 3	Cantidad	Solución 4	Cantidad
Cloruro De Sodio	23 gr	Alfa Naftil Fosfato, Sal De Calcio	0.30 gr	Naftil Diazo Azul B	0.30 gr	Ácido L-Tartárico	3.0 gr
Acetato De Sodio	2.0 gr			Solución Salina Estéril	20 mL	Hidróxido De Sodio 1 N	35mL
Acido Acético Glacial	0.5mL					Agua Desionozad	200mL
Agua Desionizada	90 mL						

Solución 1. Disolver perfectamente los reactivos en agua destilada; ajustar el pH a 4.9 y el volumen final a 100 mL con agua desionizada. Se envasa en un frasco ámbar y se guarda en refrigeración.

Solución 2. Colocar los 0.30 gr del reactivo en un frasco gotero color ámbar de 30 mL, añadir 20 mL de la solución 1, agitar hasta disolución y almacenar en refrigeración, esta solución se debe preparar cada mes y anotando fechas de preparación.

Solución 3. Envasar en frasco gotero ámbar. Conservarlo en refrigeración y anotar fecha de preparación para renovar cada dos meses.

Solución 4. Disolver el ácido L- tartárico en un poco de agua y agregar los 35 mL de hidróxido de sodio 1N, agitar hasta disolución y ajustar el pH a 4.9, agregando hidróxido de sodio 1 N, añadir agua desionizada hasta aforar a 200 mL. Almacenar en frasco en ámbar y en refrigeración anotando fecha de preparación. Esta solución debe renovarse cada 2 meses.

**b. Procedimiento.** Colocar un trozo de 1x1 cm del material que contenga la mancha seminal sospechosa y colocarla en un tubo de ensaye con tapón de rosca, de 15 mL de capacidad y adicionar 3 mL de agua desionizada, marcarlo con la letra P, esta será la muestra problema.

Después otra área de 1x1 cm de un área que no presente manchas, se coloca en un tubo con 3 mL de agua. Y se marca con C. Esta será el control. Después de 15 minutos se preparan 4 tubos de 7 mL de la siguiente manera:

- Tubo problema se le agregan 3 gotas de sustrato.
- Tubo problema inhibidor (Pi) se le agregan 3 gotas de sustrato y 3 gotas de inhibidor.
- Tubo control con 3 gotas de sustrato.
- Tubo control inhibidor (Ci) se le agregan 3 gotas de sustrato y 3 gotas de inhibidor.

Se agita cada tubo mezclando bien y poner 10 gotas del tubo P tanto al tubo P y Pi y se mezcla. De igual forma se toman 10 gotas del tubo C y se ponen en los tubos C y Ci y se mezclan. Finalmente se agregan 3 gotas de la solución de naftil diazo azul a cada uno de los 4 tubos.

**c. Interpretación de resultados.** Si el tubo marcado como P cambia de color café marrón, a violeta intenso en 30 segundos o menos, mientras que Pi en el mismo tiempo, toma un color amarillo pálido entonces el resultado es positivo. Los tubos C y Ci deben permanecer de color amarillo claro; si esto no sucediera quiere decir que el reactivo se ha deteriorado.

Así pues, si el tubo problema cambia a color violeta intenso y este color no aparece en ninguno de los otros 3 tubos, el resultado será indudablemente positivo.

En ausencia de espermatozoides, esta técnica debe ser corroborada por electroforesis usando suero de líquido seminal antihumano para comprobación; siendo además conveniente cuantificar la fosfatasa ácida especialmente cuando se trata de individuos azoospermicos o vasectomizados.

**4. Determinación cuantitativa de la fosfatasa acida prostática en huellas y manchas de líquido seminal.** La fosfatasa ácida es una enzima que hidroliza la timolftaleína sódica monofosfatada, liberando la timolftaleína. La reacción de un álcali termina la reacción enzimática y desarrolla simultáneamente una coloración azul; esta coloración es proporcional a la concentración de enzima prostática y se mide espectrofotométricamente a 590 nm y se utiliza una curva de calibración.

**5. Reacción de Florence.** Utiliza una solución yodo-yodurada y se obtienen cristales de colina (rombos color castaño). Consiste en la formación de cristales bajo la acción de una solución, la cual consta de yoduro de potasio, yodo y agua destilada.

**a. Procedimiento.** Si la mancha se encuentra en una superficie dura se procederá a rasparla y colocar los residuos en el portaobjetos. Si por el contrario la mancha está en una superficie blanda, la misma se extraerá con la ayuda de agua destilada, colocándolo en un porta objetos y secando a Baño María. **La técnica consiste en agregar una gota de la muestra y se le agregan dos gotas de reactivo, cubriendo posteriormente la preparación para observarla al microscopio.**

**b. Interpretación de resultados.** Con la presencia de esperma se forman los cristales de yoduro de colina instantáneamente, no obedecen ninguna ley pues en algunas ocasiones los cristales son voluminosos, otras cortos o extremadamente anchos, o bien muy pequeños no alcanzando el tamaño de los cristales de hemina. La desventaja de esta técnica es que muchas manchas de sustancias orgánicas producen formación de los cristales de Florence, por lo que la reacción no es específica para líquido seminal.



## **6. Reacción de Barberio.**

**a. Procedimiento.** El reactivo es una solución saturada de ácido pícrico, aconsejándose que la solución este bien filtrada para evitar toda precipitación de cristal del ácido. Se coloca una gota de la muestra a analizar y dos gotas del reactivo de Barberio, se colocan sobre un portaobjetos.

**b. Interpretación de resultados.** Se obtienen cristales de formas diferentes: agujas, conos, los que están adosados por su base y presentando por transparencia aspecto romboideo, cuyos ángulos obtusos son truncados.

La principal desventaja es que la reacción de Barberio se obtiene con algunas otras sustancias como jugo de carne y naranja. Por lo tanto no es una reacción exclusiva para líquido seminal como tampoco lo es la reacción de Florence, es decir, no permiten afirmar su presencia o ausencia y su valor probatorio judicial es notoriamente bajo.

## **E. Técnicas de confirmación**

El elemento fundamental en la identificación de esta secreción es el hallazgo de espermatozoides por lo que el objetivo principal es hallarlos de forma completa. Su fragilidad es enorme y la observación de colas y cabezas aisladas no tienen significado diagnóstico de valor legal, porque existen elementos contaminantes tales como hongos, glóbulos rojos etc., que asemejan a unas con otras. Por ejemplo la existencia de bacterias por que estas atacan el tallo de los espermatozoides, haciéndolas más difíciles de identificar. Muchos autores consideran que la vida media del espermatozoide va desde 30 minutos hasta 12 horas. La supervivencia en la cavidad anal no sobrepasa a las 12 horas dependiendo de características como el grado de humedad, presencia de parásitos y bacterias, pH, materia fecal o sangre. En cadáveres no hay datos bibliográficos en cuanto al tiempo posible de encontrarlos vivos, y hay que considerar que también puede afectar la putrefacción del cadáver; de ahí la importancia de hacer el frotis en un tiempo lo más posible a la evacuación del líquido seminal fuera del organismo.

El tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad vaginal cambia dependiendo de, entre otras variables, si la ofendida se encontraba con la menstruación o con infecciones vaginales, el pH vaginal, el lavado vaginal, el ejercicio físico y la cantidad de espermatozoides en el eyaculado. Por su parte factores como la defecación, afectan el tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad anal. La mezcla de estas variables hace que en general, los espermatozoides puedan detectarse en vagina hasta tres días después del coito. Sin embargo en la literatura relacionada con la investigación forense, se han observado algunos casos en los cuales los espermatozoides han sido detectados hasta seis días después del coito.

Por otra parte, no encontrar espermatozoides en los extractos puede deberse a la ausencia de líquido seminal en la muestra analizada, o bien a la presencia de eyaculados provenientes de pacientes azoospermicos (que carecen de espermatozoides en el fluido seminal), en los cuales la detección de elementos como fosfatasa ácida o proteína P-30 son los indicadores de la presencia de líquido seminal.

**1. Descripción de espermatozoides.** El elemento característico del líquido seminal es el espermatozoide, el cual se encuentra exclusivamente en el tracto genital masculino y cuya finalidad es la reproducción. Fue visto al microscopio por primera vez por Van Leeuwenhoek en 1678. La anatomía del espermatozoide consta de una cabeza, un cuello y una cola larga, en relación con el tamaño de la cabeza.

Esta técnica se hace simple y sencillamente determinando microscópicamente la estructura de espermatozoides que se encuentran dentro del líquido seminal. Dicho de otra manera se observa la morfología de un espermatozoide. Para esto se utilizan diferentes tinciones.

**2. Técnicas de tinción.** Se utilizan con la finalidad de crear una coloración la cual hace un contraste de absorción en un sustrato que apenas ofrece una diferenciación captable ópticamente. Gracias a estas se pueden apreciar las partes elementales de la célula como lo son el núcleo, citoplasma y la cola. El aspecto de una preparación puede variar dependiendo de la tinción empleada y el color por si no tiene ningún significado en especial.

**a. Tinción de Gram.** Por este procedimiento la cabeza se tiñe de color rosa y el cuerpo medio y el tallo se observan de color azul. El procedimiento consta de

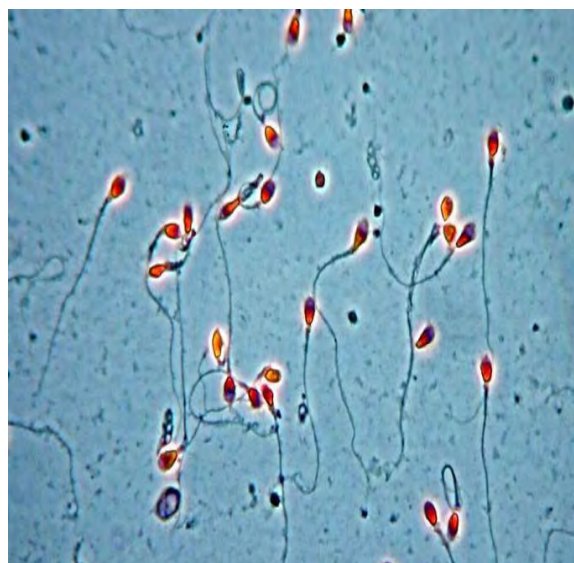
un frotis o una gota de suspensión problema la cual se seca ligeramente al calor del mechero y se fija con metanol. Posteriormente se añade una gota de reactivo de cristal violeta hasta cubrir la muestra por completo y se deja actuar durante un minuto. Se lava con agua, y se agrega una gota de lugol y se deja actuar durante un minuto, se tira el exceso e inmediatamente después se agrega el decolorante el cual se deja actuar durante 60 segundos. Se seca con un papel filtro y posteriormente se le agrega el colorante de safranina durante 30 segundos. Finalmente se lava con agua destilada y se observa al microscopio con aceite de inmersión y el objetivo correspondiente.

**b. Tinción con azul de metileno.** Con esta técnica los espermatozoides se observan coloreados tanto cabeza, cuerpo y cola de color azul. El procedimiento se realiza fijando el frotis que contiene la muestra problema por medio de calor como en la técnica de Gram. Primeramente se cubre la preparación con el colorante de azul de metileno y se deja actuar durante un minuto, se lava con agua para retirar el colorante y se observa al microscopio con aceite de inmersión.



**c. Tinción de Christmas Tree.** En esta tinción específica para espermatozoides, las cabezas de los mismos se observan de color rojo y el acrosoma y las colas de color verde, por lo que es conocida como tinción de "Christmas tree". La

muestra teñida es observada al microscopio escrupulosamente, buscando y cuantificando los espermatozoides presentes. Por la naturaleza de la muestra con que se cuenta y el tratamiento que se le da en la preparación de los extractos, es posible observar morfologías atípicas tales como la ausencia de cola, razón por la cual es necesario que peritos debidamente formados y con experiencia sean los que realicen este tipo de análisis. El procedimiento es que una vez que se tenga fijado el frotis se añaden dos gotas de rojo rápido nuclear y se deja reposar en una cámara durante 15 minutos (puede ser una caja de petri colocando en el interior un filtro húmedo). Posteriormente se lava con agua desionizada durante 5 segundos y se añade una gota del colorante de Indigo Carmín y se deja reposar de 15 a 30 segundos. Finalmente se decolora con etanol absoluto y se seca por 5 minutos y se observa al microscopio.



**Fig.14.** Espermatozoides con la tinción de Christmas tree

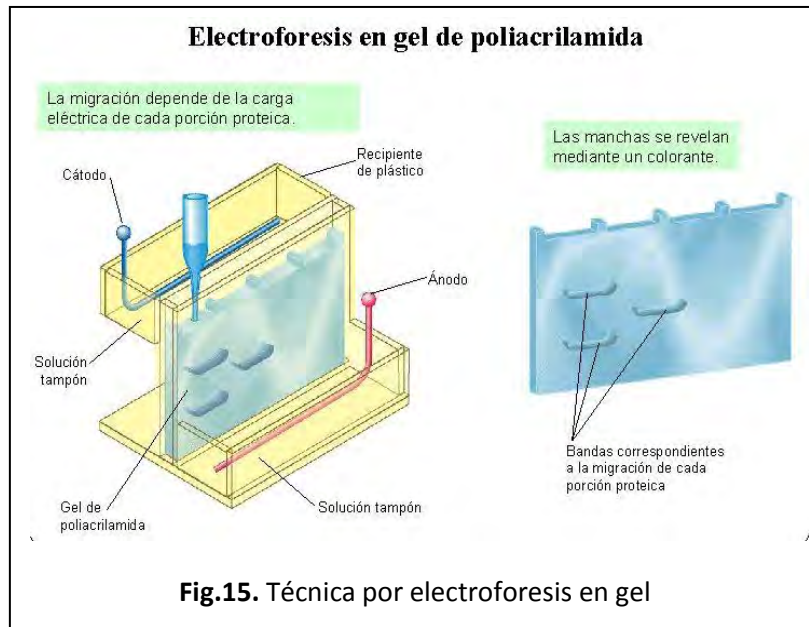
**3. Identificación de antígeno P-30.** También denominada la proteína prostática o APE (antígeno prostático específico), es un elemento adicional, exclusivo del líquido seminal, y por lo tanto útil para evidenciar su presencia, es la proteína P-30, la cual fue descrita por primera vez en 1972 por Koyanagi y Hara et al. Sin embargo fue Sensabaugh quién le dio aplicación forense en 1978. La P-30 es una proteína producida por la próstata y se encuentra en líquido seminal en altas concentraciones.

Recientemente se ha estudiado el antígeno homólogo P-30 ó P-30, que parece ser el marcador ideal para la detección del líquido seminal, ya que es específico del sexo masculino, relativamente estable, se detecta con facilidad en forma confiable y sigue una declinación regular post-coito.

Este antígeno se ubica en la próstata, inclusive en el hombre vasectomizado. Su proporción se eleva en tumores prostáticos y en sus metástasis. El P-30 proporciona una evidencia confiable de la presencia de líquido seminal, a pesar de la ausencia de zoospermos. Existen varios métodos para determinar esta proteína, entre los que destacan inmunolectroforesis, contraelectroforesis y ensayo enzimático.

**a. Inmunolectroforesis.** La P-30 es detectada mediante esta técnica, la cual es muy sensible y específica, que al igual que la determinación de fosfatasa ácida, se ve afectada por el tiempo, ya que su concentración en la cavidad vaginal disminuye hasta dar resultados negativos 24 horas post-eyaculado, siendo el tiempo aún menor para las cavidades anal u oral. Al igual que la fosfatasa ácida, esta proteína es más estable en manchas de líquido seminal en ropas u otros indicios, siempre que estén secos y no hayan sido lavados. Es de gran utilidad cuando se trata de pureza o especificidad de sustancias problema. En esta técnica se utilizan placas de agar o agarosa, en las que se han hecho pequeñas perforaciones desplazadas hacia uno de los extremos de la placa. En estas perforaciones se colocan los antígenos o las mezclas antigénicas a analizar y entonces se aplica la corriente eléctrica. Aquellos componentes que poseen una carga negativa migran hacia el ánodo y aquellos con una carga positiva migrarán hacia el cátodo. Al suspender la corriente eléctrica, se hacen canales adyacentes a las perforaciones y paralelos al sentido de la corriente eléctrica.

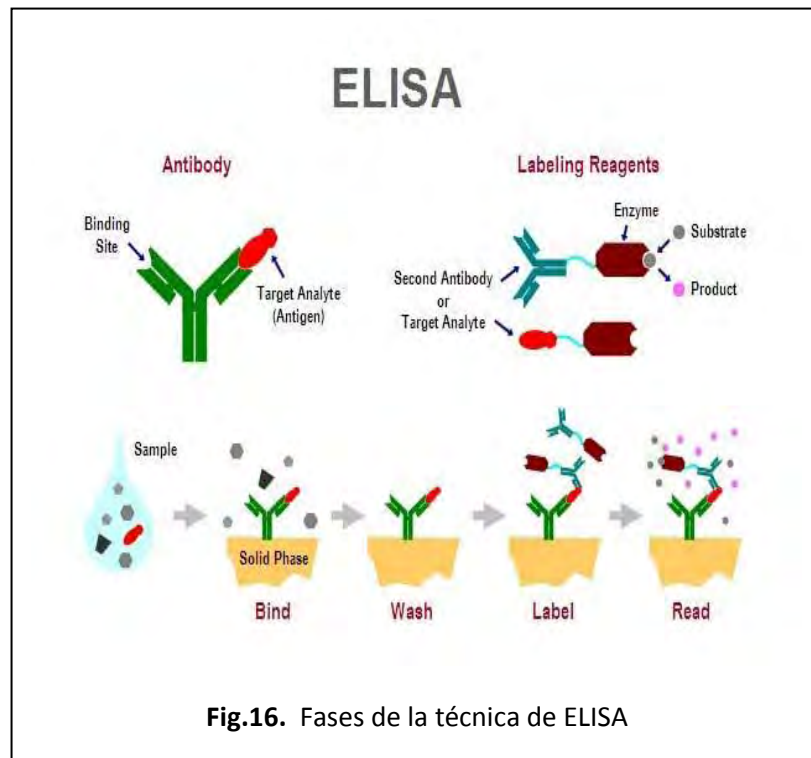
En estos canales se depositan alícuotas de los antiseros correspondientes y el sistema de reacción se deja en reposo varias horas, generalmente de un día para otro, hasta que aparezcan los arcos de precipitación correspondientes a los sistemas probados. Lo que ocurre principalmente con esta técnica es la separación de la espermina de los aminoácidos del líquido seminal.



**b. Contrainmunolectroforesis.** En los geles se hace una serie de perforaciones, de tal manera que una de las series quede orientada hacia el extremo catódico de la placa y la otra hacia el extremo anódico de la misma. En la serie de perforaciones orientadas hacia el cátodo se depositan las muestras de antígeno, mientras que en la serie de perforaciones orientadas hacia el ánodo se colocan los antisueros o anticuerpos correspondientes. Las moléculas del antígeno migrarán hacia el ánodo, dependiendo de su intensidad de carga; mientras que las moléculas de anticuerpos se desplazarán hacia el cátodo principalmente arrastrados por los cationes de la solución electrolítica, esto es, por electroendosmosis o reoforesis (el anticuerpo migra prácticamente sin carga arrastrado por los cationes de la solución electrolítica). Los resultados positivos se observan como bandas de precipitación entre los pares de perforaciones encontradas.

**c. Inmunoensayo enzimático.** Es una de la técnica en la cual uno de los reactantes, el antígeno o el anticuerpo, se fijan a un soporte sólido antes su interacción con el reactante complementario. Debido a esta característica en la técnica esta se describe como ELISA. La técnica es muy versátil por ello hay diversas variantes de la misma dentro de las cuales las más comunes son la ELISA directa e indirecta y en sándwich o de captura. En la técnica directa e indirecta el antígeno se absorbe sobre una fase sólida, en el antígeno problema. El ELISA directo comúnmente se utiliza para cuantificar antígenos conocidos, mientras que el indirecto para buscar e identificar

anticuerpos contra antígenos conocidos y el de captura se utiliza para la búsqueda y cuantificación de antígenos.



**Fig.16.** Fases de la técnica de ELISA

## **VI. ESTUDIO DEL MATERIAL GENÉTICO (DNA) PROVENIENTE DE MUESTRAS DE LÍQUIDO SEMINAL**

### **A. Introducción**

El desarrollo del análisis de los polimorfismos del DNA en Medicina Legal y Forense, propio del avance de la biología, en tanto método de investigación criminal es un método reconocido, cuya exactitud es superior a cualquier otra técnica; como tal. Es una prueba determinante, entre otros, en los delitos sexuales. Autores señalan que la aplicación de técnicas de análisis de DNA encuentra un ejemplo paradigmático en el estudio de los delitos sexuales, que por sus especiales características pueden ofrecer resultados especialmente concluyentes.

Estas técnicas, objetivamente revolucionarias, lo son por cuatro razones básicas:

- El DNA de cada persona es único y convenientemente analizado es capaz de diferenciar a un ser humano de entre todos los demás.
- El DNA es común a todas las células del cuerpo, y un análisis adecuado de cualquier parte del cuerpo -llamado indicio biológico criminal- y que incluye sangre, semen, pelos, etc., y su posterior comparación con la persona sospechosa posibilita la identificación de un criminal.
- Es posible llegar a identificar una persona a partir de indicios biológicos muy pequeños, invisibles al ojo humano.
- Es posible obtener información de indicios biológicos aunque haya pasado mucho tiempo desde el momento en que fueron depositados incluso muchos años después. Su fiabilidad es del orden del 99%.

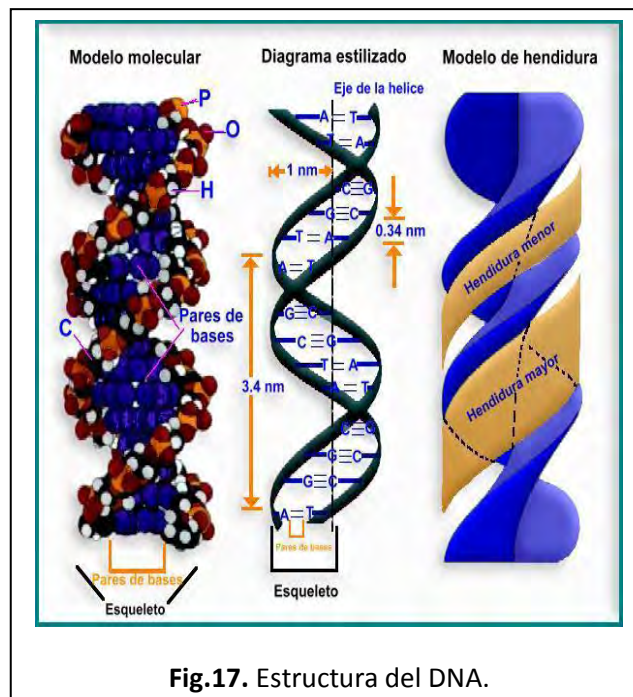
Es de tener presente, sin embargo, que los análisis de DNA no sólo tienen carácter pericial, sino que constituyen auténticas diligencias de investigación



restrictivas de derechos fundamentales, entre los que pueden mencionarse: la intimidad personal y familiar, el derecho a la autodeterminación informativa, sobre todo cuando los resultados así obtenidos son objeto de tratamiento automatizado, el derecho a no declarar contra sí mismo y a no confesarse culpable (también pueden mencionarse la libertad ambulatoria, la integridad física y la intimidad corporal).

Debido al principio de la individualidad genética, que está definida por un conjunto de marcadores genéticos que el individuo hereda de sus padres, podemos obtener lo que injustificadamente se ha llamado “huella digital del DNA”.

El material genético está contenido en los 46 cromosomas del núcleo celular y en el DNA mitocondrial. Este último es heredado al hijo de la madre, ya que durante la fecundación no pasa al ovulo, en virtud de que a el solo entra la cabeza del espermatozoide y el DNA mitocondrial se encuentra en el cuello de la célula espermática.



**Fig.17.** Estructura del DNA.

Todas las células que forman un ser humano, proceden de una sola célula, el cigoto, la cual se origina de la fertilización al unirse las células sexuales: el ovulo y el espermatozoide, que contiene cada uno de ellos, en su núcleo, 23 pares de cromosomas homólogos; 22 de ellos son autónomas y un par de cromosomas: XX en la

mujer y XY en el hombre. Los cromosomas son los portadores de los genes, constituyéndose en estructuras celulares de gran importancia en la transmisión del material genético durante la reproducción. Se da el nombre de locus (lugar), a la ubicación exacta de un gen, en un cromosoma.

Un cromosoma está constituido por una gran molécula de DNA (ácido desoxirribonucleico), unidad de proteínas y contiene alrededor de 100,000 genes de promedio.

El DNA está formado por dos cadenas en forma de hélice y contienen 4 diferentes bases, la adenina, A; la citosina, C; la guanina, G y la timina, T; estas se repiten una y otra vez, de manera variable a lo largo de ambas cadenas. Estas dos cadenas de nucleótidos que forman el DNA están unidas entre sí, por puentes de hidrógenos.

Los genes, son fragmentos de DNA, de los cromosomas que codifican a las proteínas, las cuales intervienen integralmente en las funciones y estructuras, de las células del cuerpo humano.

El DNA humano, contiene aproximadamente entre 50 y 100 mil genes diferentes; los genes están localizados en loci particulares de los cromosomas y muchos de ellos pueden existir en formas variables llamadas alelos, que infieren en la secuencia de nucleótidos en el DNA: para el gen  $x$ , puede existir en la población, variantes en sus alelos: X1, X2, X3, X4 y cada individuo puede tener solo 2 de esos alelos; uno en cada cromosoma de un par homólogo. Si un individuo, posee dos copias idénticas de un alelo en particular, es homocigoto, en ese locus, y si los tiene diferentes, es heterocigoto.

Un locus es polimórfico, si existen muchas variedades de ese gen, en la población estudiada. El 1% de las células codifica, para proteínas, o constituye genes. El 30% del genoma humano que no codifica, es porque son secuencias repetidas del DNA, llamadas mini satélites, que constan de repeticiones en tándem (conjunto de fragmentos iguales) de una secuencia de DNA, de tamaño variable y son muy polimórficas.

Los marcadores genéticos que pueden ser útiles en la huella digital de DNA, deben de ser polimórficos; tener una frecuencia alélica y genotípica muy baja y un gran poder de discriminación o capacidad de distinguir a dos individuos.

La herencia de los alelos de los diferentes sistemas, se da de acuerdo con las leyes de Mendel, de la genética clásica, por lo tanto los patrones o los haplotipos, pueden ser establecidos estadísticamente, de acuerdo con la frecuencia alélica y genotípica de una población dada.

### **B. Muestras de semen**

El estudio de restos de semen como evidencia en casos de agresión sexual es, junto con los de sangre, el tipo de análisis más solicitado en el laboratorio forense. La aplicación de técnicas de estudios de polimorfismos de DNA ha superado muchos de los problemas que se plantean con el uso de marcadores convencionales, pero aun así presenta sus propias limitaciones.

**1. Contaminación y degradación de la muestra.** Cuando una evidencia es recogida del lugar de los hechos, esta debe ser perfectamente identificada y aislada para evitar la posible contaminación biológica sobre la muestra. Esta última se define como un aporte extra del material genético al propio de la evidencia, lo cual origina una mezcla de material genético que puede crear cierta confusión en el análisis de las muestras y posterior interpretación de los resultados.

Esta contaminación se puede ocasionar antes de la recogida, durante y remisión de la muestra o hasta en el mismo laboratorio forense.

En cuanto a la degradación del DNA esto se refiere a un material genético que por acción, generalmente bacteriana, ha sido fragmentado de forma inespecífica por la acción de las nucleasas.

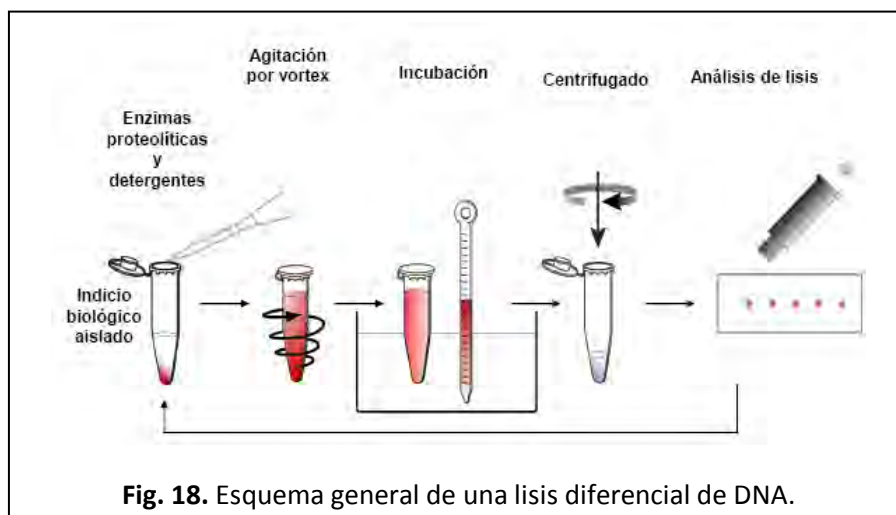
La degradación puede darse de forma natural por factores como la humedad, presencia de bacterias entre otras y también puede originarse por un mal manejo de

las muestras, es decir, colocar las muestras húmedas en bolsas de plástico, no utilizar refrigeración, tardanza en el tiempo de análisis etc.

Aunado a estos factores se agregan otros tantos como una mala fijación de ácidos nucleicos usando como conservador formaldehído, ocasionando limitadas extracciones de DNA, también la exposición del material genético contra luz UV durante cierto periodo de tiempo provoca daños sobre su estructura.

**2. Técnicas de Extracción.** La técnica de extracción depende del tipo de muestra y de la extracción que se realizará, en México se utilizan extracciones orgánicas, inorgánicas y mediante el uso de kits comerciales.

**a. Lisis diferencial.** Una de las mayores de sus ventajas es que puede resolver mezclas de semen con fluidos biológicos procedentes de la víctima, esto se logra por medio de un método de extracción denominado lisis diferencial que se basa en la resistencia de los espermatozoides a la lisis con detergente y proteinasa K en ausencia de un agente reductor. El procedimiento consta de incubar la muestra en una solución con SDS (Dodecil Sulfato Sódico 20%) y proteinasa K produciendo la rotura de las células epiteliales, pero no de los espermatozoides, que pueden recuperarse por centrifugación. En el sobrenadante queda retenido el DNA procedente de la víctima y el precipitado contendrá los espermatozoides íntegros. A este precipitado se le hacen una serie de lavados y se somete de nuevo a una incubación con una solución con SDS 20% y proteinasa K pero esta vez añadiendo el agente reductor que será DTT (Ditiotreitol 1M), esto con el fin de que tras una digestión con esta segunda fracción se llegue hasta el núcleo y una vez en éste, degradar sus proteínas y obtener el DNA puro de los espermatozoides para que no interfiera en el PCR.



Para asegurar la pureza del DNA se efectúa un lavado con una solución de cloroformo impregnada con fenol, para eliminar algún resto de proteínas, esto mediante agitación en un vortex para separar las fases. La fase acuosa es la que contiene el DNA, a esta se le agrega etanol absoluto en igual proporción que la fase acuosa, con el fin de precipitar el DNA, puesto que el DNA es desplazado por que el etanol es más soluble en agua.

El procedimiento general para realizar una extracción diferencial de DNA a partir de muestras combinadas (semen- sangre, células de descamación), es el siguiente:

- Colocar una porción de la muestra de 25 mm<sup>2</sup>, en 1 mL de agua destilada e incubar a 37 °C durante 1 hora, con agitación vigorosa.
- Retirar la tela con un tip y centrifugar a 13,000 rpm, recuperar el sobrenadante, el cual contiene el DNA de la víctima.
- Se pone el material obtenido de la víctima en el paso anterior a digestión con proteinasa K, SDS y TEC, durante 2 horas a 56 °C. La solución se prepara con EDTA 10 mM, TRIS 10 mM, NaCl 100 mM, a esta se le añade SDS 1% Y DE 10 a 20 µL de proteinasa K.
- Se centrifuga a 13,000 rpm durante 10 minutos y se retira el sobrenadante que contiene el DNA de la víctima.
- El precipitado del paso anterior contendrá los espermatozoides del presunto agresor. Se resuspende nuevamente en pk, SDS, TEC.
- Añadir 10 µL de DTT e incubar durante 12 horas a 56 °C.
- Luego con los dos líquidos se procede a las extracciones con solventes orgánicos (fenol/cloroformo-isoamílico) y precipitar el DNA de ambos en etanol absoluto.
- En caso de tratarse solo de muestras de semen no se realiza la separación del material de la víctima.

De esta forma se obtiene información procedente de la víctima y del agresor por separado y a partir de aquí cada muestra se somete a diferentes procedimientos para aislar el DNA utilizando otras técnicas como cloroformo/fenol o Chelex. La gran desventaja de la lisis diferencial es que no es aplicable para individuos azoospermicos o vasectomizados.

También en los casos de agresión sexual se han incorporado las llamadas baterías de tipificación de microsatélites específicos del cromosoma Y. Estos Y-STR incrementan notablemente el índice de éxito en la identificación del componente masculino en mezclas de fluidos biológicos hombre/mujer en los que la lisis diferencial es inútil o en aquellas en las que sea de alto riesgo su aplicación (muestras muy degradadas o con muy pocos espermatozoides). Además se ha comprobado que grandes cantidades de DNA femenino no inhiben la amplificación de alelos ligados al cromosoma Y.

Otro de los procedimientos empleados para realizar la extracción de DNA espermático se obtiene de la siguiente manera:

- Colocar una porción de la mancha de 25 mm<sup>2</sup> con una solución de extracción, incubar a 37 °C durante 30 minutos, agitando periódicamente mediante un vortex.
- Se perfora el fondo del tubo con una aguja caliente y se centrifuga la muestra con un Spin corto. Todas las muestras se colocan en tubos Eppendorf etiquetados. También se perfora la superficie (evitar acumulación de gases).
- Se centrifuga de nuevo durante 5 minutos a 14,000 rpm en una microcentrífuga.
- Retirar el sobrenadante del extracto y lavar el pellet 3 veces en SDS/Tampón de extracción. Luego se centrifuga a 14,000 rpm con un spin. El sobrenadante contiene el material de la víctima y el pellet el DNA del sospechoso.
- Se guardan los tubos etiquetados a -20 °C, para su posterior uso, sí es que se requieren.
- Se añade la solución de extracción nuevamente al pellet, como se describió antes, e incubar toda la noche a 37 °C.
- El tampón de extracción está conformado de: TRIS 0.01 M (1.21 g/l), EDTA disódica 0.01M (3.72 g/l), NaCl 0.1 M (5.84 g/l), SDS al 2 % p/v, pH 8.
- La solución consta de: tampón de extracción (20 mg/mL), SDS al 2%, proteinasa K (30 µL).

**b. Técnica de extracción orgánica.** Se utiliza para tejidos parcialmente degradados y huesos. Se basa en la digestión proteica de membranas celulares y separación de DNA por gradiente de solubilidad, en una extracción líquido- líquido.

El procedimiento general para realizar una extracción orgánica y separación de DNA de células espermáticas y células vaginales, es el siguiente:

- Colocar la muestra problema con semen en un tubo de 1.5 mL (pedazo de hisopo de algodón, o tejido manchado cortado).
- Se añade la solución de separación A, se mezcla el contenido en un tubo de agitación suave y se incuba a 37 °C durante 2 horas.
- Se hace un agujero en la tapa del tubo (liberar gases) y se transfiere el material dentro de un tubo de 1.5 mL para posteriormente centrifugarlo a 12,000 rpm durante 5 minutos.
- Retirar el sobrenadante y se coloca en un tubo de 1.5 mL. Esta es la fracción que contiene el DNA de las células lisadas (denominada fracción femenina).
- Retirar el substrato que queda y colocarlo en otro tubo. Ser cuidadoso de no tocar el pellet que queda en el fondo del tubo original.
- Añadir al pellet (fracción masculina) en el tubo original, la solución B (SSB), mezclando suavemente e incubar durante 2 horas a 37 °C.
- Al pellet se le agregan 500 µL de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (25:24:1). Esto dentro de una campana de extracción de gases. Esta mezcla se agita hasta que tenga una consistencia lechosa. Después se centrifuga durante 2 min en una microcentrífuga a un spin a gran velocidad.
- Las extracciones orgánicas sucesivas para purificar se pueden realizar hasta un máximo de tres veces.
- Se retira el estrato acuoso (fracción masculina) del tubo inicial colocándolo en un tubo Eppendorf de 1.5 mL, tratando de no mover la capa proteica desnaturalizada que se formó en la interfase entre el agua y las capas orgánicas.
- Añadir a la capa acuosa 10 mL de etanol absoluto a -20 °C, mezclando y dejarlo a esta temperatura de -20 °C durante 30 minutos.
- Posteriormente se centrifuga durante 15 minutos a 12,000 rpm.

- Se decanta y elimina el alcohol, después de esto el pellet se lava con 1 mL de etanol al 70 % a temperatura ambiente.
- Se centrifuga 5 minutos, se decanta para eliminar el alcohol, el remanente se quita con una micropipeta. Se centrifuga nuevamente durante 30 minutos y se vuelve a retirar el alcohol remanente.
- Se resolubiliza el DNA en 36  $\mu\text{L}$  de TBE a 56 °C al menos 2 horas, o dejando el DNA toda la noche pero a 56 °C.
- El DNA extraído corresponde a la fracción masculina.

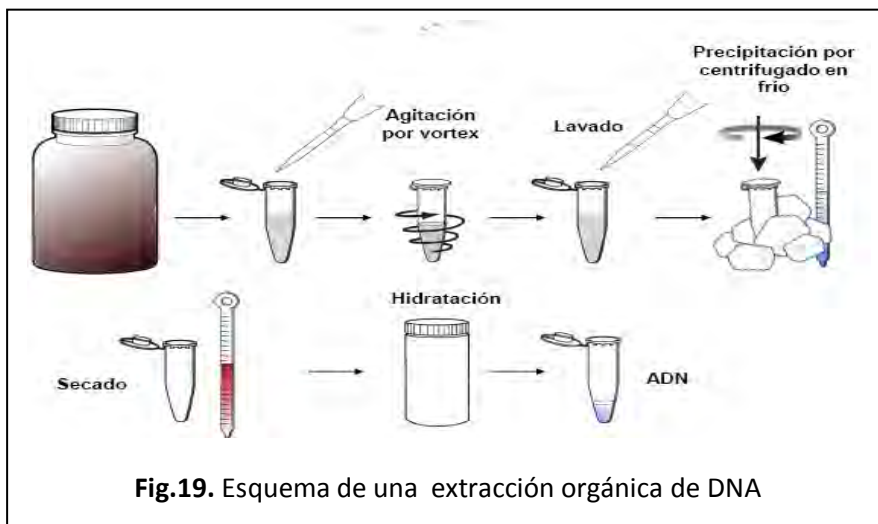


Fig.19. Esquema de una extracción orgánica de DNA

**c. Técnica de extracción inorgánica.** Se utiliza la denominada técnica de Chelex que se aplica a muestras de saliva, sangre, semen, pelo. Generalmente está basada en el uso de resinas quelantes, que contienen afinidad por iones metálicos y polivalentes, los cuales contienen grupos que actúan como grupos quelantes. El DNA se pega a la resina por carga específica del DNA (negativa).

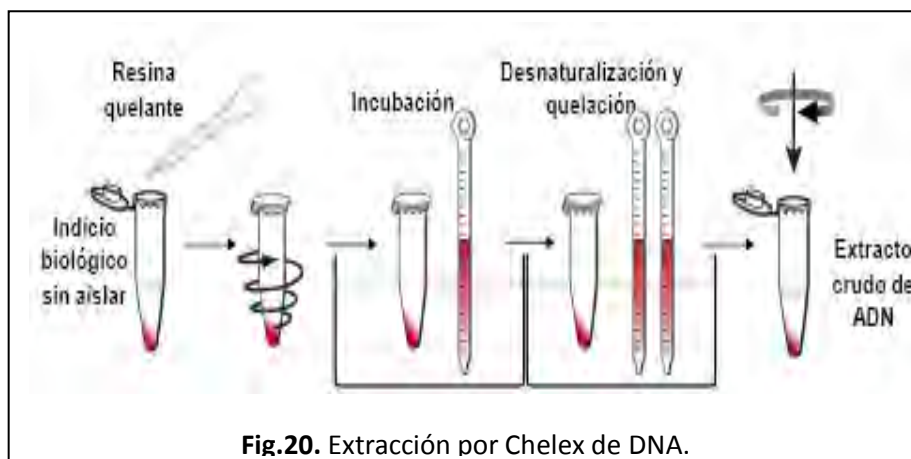
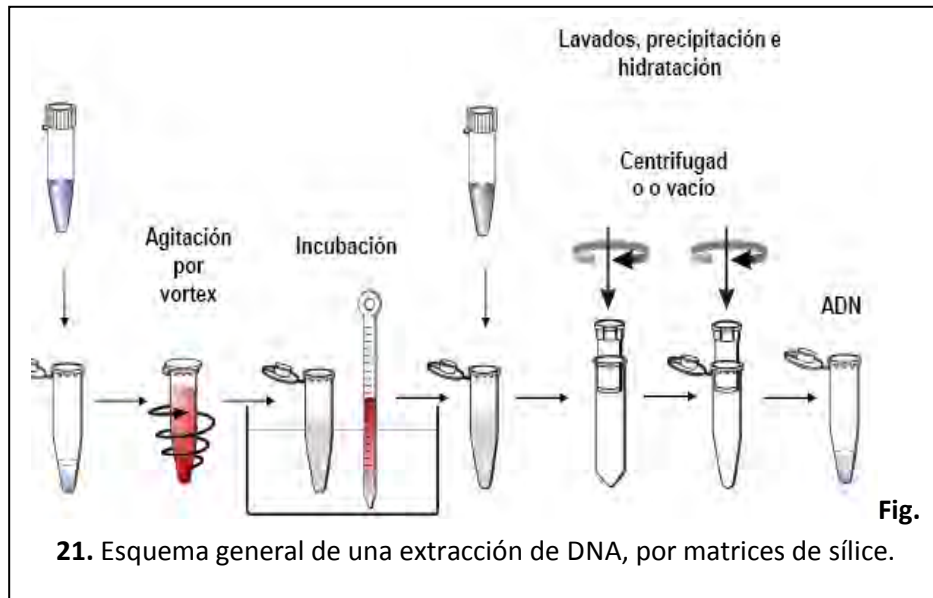


Fig.20. Extracción por Chelex de DNA.



**d. Técnica de extracción por matrices de sílice.** En este tipo de extracción el DNA generalmente se une al sílice en altas concentraciones de algún tipo de sal del caotrópica, la cual se elimina durante el lavado y elusión. El mecanismo unión de DNA al sílice en altas concentraciones de la sal no ha sido completamente descrito, pero puede involucrar que el agente caotrópico impida que el agua permeabilice el sílice cargándolo negativamente.



**e. Técnicas de extracción por medio de kits comerciales.** Están basados en la afinidad eléctrica del DNA, mediante una resina magnética (cargada positivamente), para formar un complejo (resina-DNA), y con la ayuda de una barra imantada se hace posible la extracción del DNA.

**3. Técnicas de Cuantificación.** Una vez que ha sido extraído el material genético se cualifica y cuantifica, uno de los métodos utilizados es por medio de electroforesis, este método consta de un gelatina (0.6 cm de grosor, 1.4 cm de superficie de largo por 11 cm de ancho) de agarosa grado proteínas (0.8-1.0%), la cual a esta concentración desplaza el DNA a través de los sitios activos de la agarosa. Se deben tener algunas consideraciones como, dejar que corra únicamente 1.5 cm a partir del origen, esto con el fin de tener bandas bien definidas y a esta distancia se asegura un DNA de alto peso molecular.

Una de las formas de cuantificar el DNA es mediante la preparación de un gel de agarosa, en donde se colocan estándares de peso molecular conocido (50, 100, 250 y 300 ng/10  $\mu$ L), y de acuerdo a la intensidad de la banda, se extrapolan con las bandas obtenidas de las muestras problema, determinando así la concentración del material genético.

Otra de las formas de cuantificación es por medio de **espectroscopia de luz ultravioleta**. Las longitudes de onda características de la molécula de DNA están a 260 y 280 nm.

**El PicoGreen** es un método de marcaje que intercala la fluorescencia. En la realización de este ensayo de placa, se adicionan 5mL de muestra a 195 $\mu$ L de una solución que contiene el marcador PicoGreen. Cada muestra es adicionada a un pozo de una placa de 96 pozos para posteriormente ser examinada con un fluorómetro. Desgraciadamente, este ensayo cuantifica todo el DNA de una muestra y no es específico para DNA humano.

Probablemente el método más popular en los laboratorios forenses para la cuantificación de DNA genómico sea el procedimiento denominado **“slotblot”**. Esta prueba es específica para DNA humanos y otros primates debido a una sonda de 40 pares de bases (bp) que es complementaria a una secuencia de DNA satélite específica de primates D17Z1 localizada en el cromosoma 17. El ensayo de slotblot fue descrito por primera vez con sondas radiactivas, pero desde entonces se ha modificado y mercantilizado con quimioluminiscencia o en formatos para detección colorimétrica.

El uso de sondas a menudo requiere la inmovilización del DNA, además de que la hibridación de la sonda con el DNA es seguida por una serie de pasos de lavado con subsecuentes pérdidas durante la remoción de la sonda. Este proceso puede consumir tiempo, variando los resultados y limitando el rango de la cuantificación. El Sistema de Cuantificación de DNA Humano **AluQuant** se caracteriza por:

- Sondas específicas para DNA humano
- No es afectado por la presencia de DNA de otras especies
- No requiere inmovilizar el blanco o pasos de lavado
- Su alta sensibilidad permite la cuantificación sin amplificación por PCR.

El sistema de cuantificación de DNA humano AluQuant utiliza ensayos específicos para humanos, para secuencias sumamente repetidas en el DNA cromosómico, para medir la cantidad de DNA humano que se encuentra presente en la muestra. Los contaminantes comúnmente encontrados en las muestras forenses, tales como *E. coli* y levaduras, no interfieren con la detección de DNA humano.

AluQuant utiliza un formato de hibridación en solución base, que es extremadamente efectivo para medir el DNA humano. Los resultados obtenidos utilizando AluQuant son precisos y no son ambiguos, utiliza una reacción de luciferasa para producir luz. La cantidad de luz producida por la reacción, corresponde a la cantidad de DNA humano, que se encuentra presente en su muestra. El producto resultante se lee por un luminómetro.

### VENTAJAS:

- Alta sensibilidad.
- Evita uso de sustancias tóxicas
- De fácil manejo
- Brinda rapidez

### DESVENTAJAS:

- Requiere un mínimo de muestras para cuantificar
- Actividad del kit con vida media baja
- Requiere necesariamente de muestras estándares de DNA
- Impide almacenamiento por “largos” periodos de tiempo

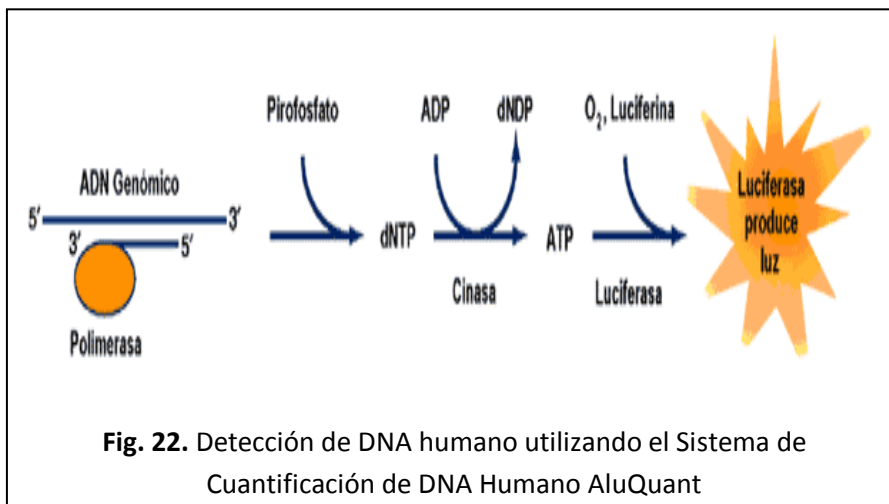
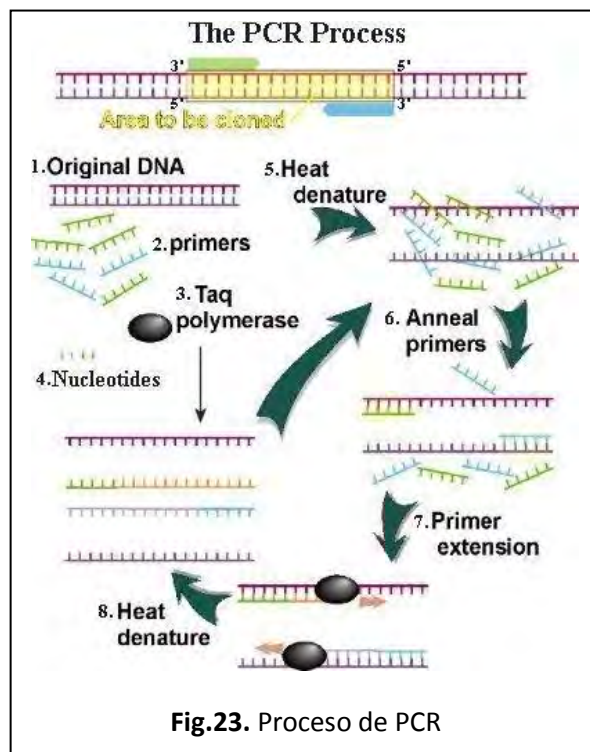


Fig. 22. Detección de DNA humano utilizando el Sistema de Cuantificación de DNA Humano AluQuant

**4. PCR (Reacción de la cadena de la polimerasa).** Una vez cuantificado el DNA se procede a realizar PCR, la cual es un tipo de clonación mediante la cual se generan copias exactas de un fragmento específico del DNA, es decir, de algún oligonucleótido del genoma humano y de naturaleza polimórfica, lo cual nos dice que tan alto es su índice de variabilidad y por consiguiente diferenciar a individuos muy parecidos. Se requieren cantidades mínimas, en promedio se usan de 2 a 8 ng.

Los componentes básicos del proceso analítico son:

- DNA problema
- Primers (oligonucleótidos, secuencias de DNA pequeñas y conocidas)
- Buffer
- Enzima (Taq polimerasa)
- dTP (deoxinucleotido trifosfatos)
- Termociclador



Este método consta de 30 ciclos en promedio y cada uno se efectúa a una temperatura diferente, estas dependen del tipo de primer (secuencia de

oligonucleótidos específica, que son el o los moldes, que generan el fragmento que se quiere amplificar) que se utilice. La primera temperatura que se utiliza es la de 90 °C para garantizar que la doble hélice de DNA se separe en 2 hebras de DNA, rompiendo los enlaces de hidrógeno. La segunda temperatura es de 60 °C, en donde los primers se pegan a cada fragmento de DNA; en la última temperatura se eleva a 70 °C, en donde la enzima Taq polimerasa, comienza a colocar de acuerdo a la secuencia de los primers, cada base purica o piridimica (se encuentran en solución, como dATP, dCTP, dTTP, dGTP), generando a partir de una doble hélice, 2 helices de DNA, de 2 se obtienen 4 y así sucesivamente hasta completar en promedio los 30 ciclos, que son los que generan millones de secuencias en cuestión. Al final de los ciclos programados el producto ya amplificado se somete a una temperatura de 72 °C durante 7 minutos, esto con el fin de garantizar la unión de las cadenas de DNA formadas.

Al final del PCR, se elabora un gel de agarosa grado PCR al 4% dependiendo de la muestra y para verificar la presencia de la misma, deberá aplicarse al gel, la llamada escalera de peso molecular, para determinar con precisión los productos de PCR.

### Ventajas

- Amplificación de indicios muy pequeños
- Análisis de indicios degradados
- Menos tiempo
- Detección no radiactiva (actual fluorescencia)
- Facilidad de interpretación (en forma de picos)
- Disminución de probabilidad de error (menor manipulación humana)

### Desventajas

- Amplificación de contaminación biológica
- Inhibición del PCR por:
  - Iones metálicos (exhumación)
  - Tintes de cabello (varía)
  - Tratamiento de telas (mezclilla)

## 5. Técnicas para determinar el genotipo.

**a. Dot-blot.** Una vez hecho lo anterior, se procede a determinar el genotipo de cada muestra, lo que puede lograrse utilizando unas tiras denominadas Dot-Blot, las cuales constan de unas tiras de nylon en las cuales se encuentran fijadas covalentemente los oligonucleótidos específicos, en forma de cadena simple polimórfica; posteriormente se les adiciona el complemento, mismo que se distinguirá en color, cuando se unan, formando así la doble hélice, la cual se identificara en forma de un color, generando un punto el cual representa un alelo, cabe mencionar que dos alelos forman un genotipo.

**b. Electroforesis vertical.** Otra forma de determinar el genotipo consiste en una electroforesis vertical, empleando gel de acrilamida. Esta técnica es más sensible que la anterior. Aquí los genotipos de naturaleza alfa numérica, lo que significa que pueden ser leídos, unos se forman de números y otros de letras. En esta técnica en la parte superior se encuentran unos pozos, a los que se les aplica muestra equivalente al tamaño de los mismos, además de un marcador de referencia, que señale los alelos presentes en la muestra. De esta manera se obtiene un patrón de bandas, que debe ser igual al de la persona que se trata de identificar, si se obtiene algún alelo diferente se puede hacer la exclusión de una manera absoluta.

Los marcadores genéticos se emplean de acuerdo a su naturaleza polimórfica, utilizando los modelos matemáticos que indican, si el valor de heterocigocidad, es mayor que el de homocigocidad. De aquí la enorme importancia de conocer la distribución de alelos y genotipos de la población en la que se investiga y de acuerdo a la genética poblacional de un banco de datos representativo, calcular la fiabilidad de a técnica.

Dadas las características de los polimorfismos, estos se pueden dividir en:

- **RFLPs** o fragmentos de restricción de longitud polimórfica
- **VNTRs** o repetidos en tandem en número variable
- **STRs** o repetidos cortos en tandem
- **SNPs** o polimorfismos de un sólo nucleótido

### **RFLPs**

- Enzimas de restricción reconocen secuencias de DNA específico.
- Cualquier cambio en la secuencia del DNA crea o elimina sitios de restricción particulares.
- Alterando el tamaño de uno o más fragmentos del DNA (Southern blot).
- Población no tienen los mismos sitios de restricción.

### **Minisatélites (VTRs)**

- Polimorfismos de inserción en tandem, de secuencias de 10-100 pb en longitud.
- Estos VNTRs tienen muchos alelos y una alta heterocigocidad.
- Solamente los gemelos idénticos presentan un patrón indistinguible.
- La detección simultánea de VNTRs se le conoce como huella digital de DNA (DNA finger-printing)

### **Microsatélites (STRs)**

- Son más polimórficos más frecuentes que los VNTRs, unidades de repeticiones de dos, tres o cuatro nucleótidos. Más común (CA)<sub>n</sub>.
- Estos incluso difieren entre homólogos en un individuo y entre individuos.
- Tienen tres características:
- El locus del microsatélite tiene muchos alelos
- Sólo requiere de PCR para genera segmentos que difieren en longitud dependiendo del número de repetidos
- Se ha identificado cientos de miles de microsatélites

### **SNPs** o polimorfismos de un solo nucleótido

- Son la generación de marcadores más nueva.
- Son más frecuentes que los VNTRs o microsatélites

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En el lugar de los hechos, en sucesos relacionados con delitos sexuales la aparición de presuntas manchas de líquido seminal son de vital importancia para aclarar algún caso en específico, por lo anterior es importante conocer las técnicas orientadas a identificar y confirmar que dichas manchas son exactamente de líquido seminal y si es humano o no para aclarar el caso. En algunos casos de falsos negativos valdría la pena también analizar las características de dichas técnicas para encontrar la falla al aplicarla para esta finalidad.



## **OBJETIVOS**

Elaborar una Tesina que comprenda las principales técnicas de orientación y confirmación de identificación de líquido seminal en manchas presentes en el lugar de los hechos.

Seleccionar la información necesaria y actualizada del tema en cuestión en medios electrónicos e impresos.

Determinar cuáles son las principales ventajas y desventajas de dichas técnicas.

Determinar cuál de las técnicas de confirmación de líquido seminal es la más eficaz.

## **METODOLOGÍA**

Se realizó la investigación bibliográfica sobre el tema “Técnicas de orientación y confirmación de machas de líquido seminal recolectadas en el lugar de los hechos”, haciendo la recopilación de información obtenida de libros, manuales, artículos de revistas, enciclopedias, etc. Se procedió a organizar la información recolectada con el objeto de saber con qué clase de información se cuenta y clasificarla. Después de ello, se realizó una lectura y análisis del texto para seleccionar lo que es útil (resumen) y se procedió a capturar la información en forma ordenada y simple. También se tomó en cuenta el anexar tablas así como de imágenes para otorgar una mejor comprensión de lo que se aborda en el texto.

- Se realizó la búsqueda bibliográfica del tema “Técnicas de orientación y confirmación para la identificación de sangre y semen en manchas en el lugar de los hechos” en medios impresos y electrónicos.
- Selección de la información actualizada y relevante para el tema en estudio.
- Redacción del borrador de los distintos capítulos del manual.
- Ilustrar el trabajo con imágenes y diagramas.
- Corrección del manual.
- Revisión del trabajo por el asesor.
- Corrección del manuscrito de acuerdo a las instrucciones del asesor.
- Revisión final y aprobación por parte del asesor.
- Entrega del documento final

## **IMPORTANCIA DE ESTUDIO**

La importancia del estudio de las técnicas para identificar manchas de líquido seminal es vital en los crímenes cometidos cuando se refiere a lo sexual, ayuda a los peritos en su dictamen, pues cuando se encuentran manchas de semen en una presunta violación y al realizarse los análisis correspondientes en el laboratorio y estos indicios se adjudican al agresor, es decir, que el semen encontrado en el lugar de los hechos corresponde con el del agresor permiten de una manera más fluida dar el veredicto final.

## **LIMITACION DEL ESTUDIO**

Para el desarrollo de esta tesina se recopilara información bibliográfica, obtenida de libros, manuales, artículos de revistas, enciclopedias, etc. Así también de internet, como lo son páginas oficiales o gubernamentales que aporten información confiable, ya que este es un trabajo retrospectivo se considerara información del año actual 2009 hacia años anteriores.

## **TIPO DE ESTUDIO**

Es una tesina monográfica, descriptiva y retrospectiva y bibliográfica.

## **ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN**

Como todos lo sabemos el acto sexual es una necesidad fisiológica del humano con fines reproductivos y de satisfacción principalmente pero debe ser como un mutuo acuerdo para que las dos personas lo lleven a cabo. Cuando se rebasa este límite y se obtiene a la fuerza sin el consentimiento de una de las dos personas, es entonces cuando se considera como un delito sexual y es aquí cuando la persona agredida es protegida por ciertas leyes creadas con dicho fin.

Aunque en la actualidad estas leyes no se lleven a cabo del todo, es necesario que se siga trabajando en las denominadas de índole sexual, puesto que cada día los casos de violaciones van en aumento, no del todo por la sociedad sino porque las leyes no recaen en los victimarios y estos quedando libres pueden volver a cometer este tipo de delitos.

Sumado a esto también muchas de las víctimas no realizan las denuncias pertinentes puesto que la situación no es fácil y presentan vergüenza y temor, además que por el daño psicológico les resultaría muy incomodo realizar declaraciones y exámenes en el Ministerio Publico.

Estos exámenes son realizados por peritos tanto de campo como de laboratorio los cuales llevan a cabo un cierto número de técnicas para poder esclarecer el caso y dar un dictamen que permita castigar o deslindar del delito al presunto sospechoso.

Los peritos deben de estar capacitados para que una vez que lleguen al lugar donde se cometió un supuesto delito sexual, recojan los indicios biológicos que les servirán para realizar sus pruebas y seguir un protocolo tanto en la búsqueda de los mismos como embalaje y envío al laboratorio.

En la investigación de delitos sexuales la búsqueda de semen es de gran importancia debido a que se puede utilizar como elemento de identificación humana y para descartar sospechosos. Existen una gran variedad de técnicas que nos permiten identificar a este fluido biológico y otras tantas para confirmar que se trata del mismo.

Las técnicas denominadas de orientación incluyen a las pruebas cristalográficas las cuales hoy en día ya están en desuso debido a su poca especificidad, la gran desventaja de estas técnicas es que muchas manchas de sustancias orgánicas producen formación de los cristales en el caso de Florence y en la de Barberio se forman con jugo de naranja o carne.

La lámpara de Wood es muy útil al momento de realizar la búsqueda de indicios biológicos en el lugar de los hechos pero tampoco es una prueba definitiva por lo que también es considerada como orientativa, la única ventaja de esta técnica es que es de bajo costo.

La técnica de orientación que también se sigue utilizando en México es la de la presencia de fosfatasa ácida con todas sus modificaciones, pero esta no es concluyente ya que aunque se encuentre en altas concentraciones en el líquido seminal también se halla en otras sustancias como legumbres, otros fluidos biológicos e inclusive en la vagina por lo que con esta técnica no se puede establecer un dictamen certero.

En tanto a las técnicas de confirmación la principal y la más empleada es la búsqueda y presencia de espermatozoides en el líquido seminal. Para esta técnica se emplean varias tinciones para colorear las diferentes partes del espermatozoide y crear un fondo de contraste que permita su visibilidad, según sea el caso de la tinción este se coloreará de acuerdo a los colorantes empleados, pero no se debe cantar victoria ya que en muchas ocasiones la visibilidad de estas células se hace muy difícil es por ello que los peritos de campo deben de trabajar con muestras recientes o de lo contrario agilizar la investigación a fin de evitar que se degraden las muestras, tomando las consideraciones pertinentes.

La aplicación de la genética en los procesos judiciales ha venido a ser una herramienta muy importante en la identificación de personas y de correspondencia de indicios biológicos, ya que se han diseñado un sin número de técnicas como la extracción, cuantificación y tipificación de DNA que permiten se lleve a cabo lo descrito anteriormente.

La ausencia de espermatozoides no descarta que el fluido sea semen porque éstos se destruyen con facilidad y el sospechoso puede ser oligozoospermico (poca

cantidad de semen) o azoospermico (ausencia de espermatozoides), es por ello que la técnica que se aplica en México y sin duda un parte aguas en el esclarecimiento de los delitos sexuales, es la técnica de identificación del antígeno prostático específico o P-30.

Como ya se menciona en el trabajo esta proteína se encuentra en el líquido seminal aunque en este no halla presencia de espermatozoides, es secretada por la próstata y se encarga de licuar al semen después de la eyaculación. Aunque se conoce que toda la proteína es llevada al semen, una parte se escapa al torrente sanguíneo y es otra de las partes donde se puede encontrar aunque en pequeñas cantidades. Aprovechando esta producción específica de la próstata es utilizada para el diagnóstico de cáncer prostático o para monitorear el tratamiento de este, ya que en su desarrollo se ve aumentada la producción y entonces aumenta también la concentración plasmática. Por esta razón en el laboratorio de química forense se utiliza para determinar si una muestra presuntiva es de semen o no debido a su alta especificidad.

Dicho de otra forma más sencilla, la determinación de esta glicoproteína no requiere que haya presencia de espermatozoides, los cuales como ya se mencionó anteriormente eran la prueba confirmatoria y definitiva para esclarecer los casos relacionados con presuntos delitos sexuales, pero hoy en día se ha avanzado en la ciencia y tecnología pudiéndose determinar dicho antígeno por diversos métodos, siendo estos muy confiables y sensibles en tanto a resultados y por lo tanto proporcionan una mayor certeza en los dictámenes emitidos para esclarecer este tipo de casos.

La gran desventaja que presentan estas técnicas como la inmunoelectroforesis, la contraelectroforesis y el ensayo enzimático es que tienen grandes costos, pero esto ya no es un obstáculo pues hoy en día en México ya se realizan este tipo de técnicas para determinar el antígeno prostático específico solo en aquellos casos en los que en las muestras no se encuentran presentes los espermatozoides, proporcionando especificidad y sensibilidad de hasta 0.0005 µg/ml.

Sin duda alguna todas las técnicas para determinar si una muestra corresponde a líquido seminal son de gran ayuda para el perito, pero es sabido que algunas tienen más sensibilidad que otras, pero no debe descartarse que sin duda todas son complemento unas de otras, por ejemplo la técnica de UV nos permite encontrar las

muestras en el lugar de los hechos, la técnica de la fosfatasa ácida nos permite orientarnos para determinar si se trata de líquido seminal descartando así un sin número de otras sustancias y finalmente la presencia de espermatozoides para confirmar que en verdad se trata de líquido seminal. Por otro lado técnicas más sensibles que nos dirán si efectivamente corresponden al individuo o casos de azoospermia, como lo es el caso de identificación de P-30.

## CONCLUSIONES

Se tiene como conclusión que se logró elaborar una Tesina que comprenda las principales técnicas de orientación de identificación de líquido seminal en manchas presentes en el lugar de los hechos, tales como la fluorescencia a UV que nos sirve para buscar el indicio biológico de principal interés en los presuntos delitos sexuales por la presencia de flavinas presentes en el líquido seminal lo cual hace que se revele ante la luz UV, otra de estas técnicas es la determinación de fosfatasa ácida la cual se encuentra en grandes concentraciones en el líquido seminal, y otras como las cristalográficas que ya están en desuso, todas ellas como su nombre lo indica solo para orientarnos y reducir nuestra población de sustancias a analizar.

Las técnicas de confirmación únicamente nos remiten a la presencia de espermatozoides por diversas tinciones lo cual es válido puesto que la existencia de estas células en una muestras, como el nombre nos indica está confirmando que efectivamente se trata de líquido seminal. Pero sin duda la determinación de P-30 es la mejor de todas estas técnicas pues tiene gran sensibilidad y especificidad lo cual sirve para aquellos casos en los que hay azoospermia.

Otro de los objetivos que logró completar fue el de seleccionar la información necesaria y actualizada sobre todas las técnicas de orientación y confirmación de líquido seminal relacionadas en medios electrónicos e impresos, teniendo en cuenta aquellas que ya están en desuso y las nuevas que se están implementado en México para esclarecer los casos relacionados con presuntos delitos sexuales.

También se logro determinar cuáles son las principales ventajas y desventajas de dichas técnicas, en lo que se tomo en cuenta su especificidad y sensibilidad y con esto porque es que se consideran como presuntivas y confirmatorias.



Y en base a esto se logro determinar que la más eficaz y que es una técnica confirmatoria, es la identificación de P-30 pues en comparación con las tinciones de espermatozoides y la cual también es confirmatoria, esta técnica tiene varios métodos analíticos que cuentan con especificidad y sensibilidad que permiten no cometer errores y ofrecer resultados confiables. Además las tinciones en ocasiones resultan difíciles de observar al microscopio lo cual hace más difícil la emisión del dictamen en los delitos sexuales.

Como conclusión final se tiene que todas las técnicas tanto las de orientación y confirmación son aplicables y complementarias unas con otras y nos sirven para esclarecer los presuntos delitos sexuales pero es necesario que se cuenten con los recursos económicos para poder llevarlas a cabo pues en ocasiones los costos son muy elevados y esto hace que dichos delitos queden impunes.

## REFERENCIAS

1. Quiroz A. Medicina Forense. Editorial Porrúa S.A. Quinta edición. México 1986.
2. Achaval A. Manual de Medicina Legal. Práctica Forense Tomo I. Editorial. Lexis Nexis. Sexta edición. Buenos aires. 2004.
3. Trujillo G. Medicina Forense. Editorial Manual Moderno. México 2002.
4. Rico F. Fotografía Forense en la Peritación Legal. Editorial Trillas. Primera edición. México 1991.
5. Bevel T. Ross M. Bloodstain Pattern analysis. Editorial CRC PRESS. Segunda edición. USA 2002.
6. Franco M. Hematología Forense. Editorial Porrúa S.A. Tercera edición. México 1999.
7. Murillo S. Medicina Legal. Editorial librería de medicina. Duodécima edición. México 1975.
8. Balthazard W. Manual de Medicina Legal. Editorial Salvat.
9. Locard E. Tecnicas periciales. Editorial Barcelona. España 1954.
10. Morrison P. The blood transfusion in clinical medicine. Cientific Publication. Sexta edicion.
11. Culliford B. The examination and Typing of bloodstains in the crime laboratory . londres 1971.
12. Gisbert C. Juan A. Medicina legal y Toxicología. 4ª ed. Barcelona: Ediciones científicas y técnicas, S.A; 1991.
13. Hugles, M.D. Homicide Investigative Tecniques, Published by Charles E. Thomas, Springfield Illinois. 1974.
14. Ponsold Albert. Manual de medicina legal. Barcelona: Editorial científico médica.

15. Saferstein, Richard. *Criminalistics and Introduction to Forensic Science*,. Pretice Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. Y. 1977.
16. Lorente J. *El DNA y la identificación criminal y en la paternidad biológica*. Ed. Comares. España, 1995.
17. Ganong WF. *Fisiología medica*. 16 edición en español. Editorial El manual moderno SA de CV: México, 1998.
18. Basile AA, Waisman D. *Fundamentos de medicina legal*. Ed. El ateneo Pedro García SA: Argentina, 1989.
19. Soria VM. *El agresor sexual y la victima*. Ed. Boixareu Universitaria Macombo SA: España, 1994.
20. Tello FJ. *Medicina Forense*. Ed. Melo SA. México, 1991.
21. Sanz DJ. *Avances en Medicina Legal: Ingeniería Genética, Alteraciones psíquicas y Drogas*. Ed. José María Bosch: España, 1999.
22. Franco de AM. *Hematología Forense y otra técnicas serológicas*. Cuarta edición. Ed. Porrúa. México, 2002.
23. Gonzales AF. *Técnicas instrumentales en genética forense*. Ed. Institución Fernando el católico: España, 2001.
24. Solís CB. *Técnicas de tinción para espermatozoides*. Reporte de servicio social. UNAM, FES Zaragoza. 1998.
25. OMS *Manual de laboratorio para el examen de líquido seminal humano y de la interacción entre el líquido seminal y el moco cervical*. Ed. Panamericana: Argentina, 1987.