

HISTOPATOLOGÍA FORENSE: DATAR O NO DATAR. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS SOBRE DATACIÓN EN HISTOPATOLOGÍA FORENSE.

FORENSIC HISTOPATHOLOGY: DATING OR NOT DATING. PRACTICAL CONSIDERATIONS ON FORENSIC HISTOPATHOLOGY.

SANCHEZ DE LEON ROBLES MS¹, SUAREZ MIER MP¹, CHAVES PORTELAS¹, LOPEZ GARCIA P¹.

RESUMEN.

El objetivo de este artículo es aportar una visión realista a la datación, que es una de las cuestiones más específicas y difíciles de la patología forense. Íntimamente asociada al diagnóstico de vitalidad (solo una lesión vital puede datarse), la cronología de las lesiones puede ser crucial, tanto en muertes violentas (heridas, contusiones, traumatismos craneoencefálicos, etc) en un contexto homicida, como en las muertes naturales (infartos de miocardio, tromboembolismo pulmonar, etc) o en imputaciones por malpraxis. Se realiza una revisión crítica de la bibliografía desde la experiencia de nuestra casuística, haciendo un repaso a las circunstancias más frecuentes. La cronología de las lesiones se basa en la aparición de los diferentes elementos de la reacción inflamatoria pero existe una gran variabilidad según edad, salud del fallecido, toma de medicamentos y según el tejido-órgano comprometido, que no son tenidos en cuenta en las series publicadas. Además la mayoría de estudios son experimentales sobre tejidos animales y emplean técnicas de inmunohistoquímica o moleculares de dudosa aplicabilidad a los casos reales en los que la autólisis y putrefacción limitan la utilidad de estas técnicas.

PALABRAS CLAVE: VITALIDAD. DATACIÓN. HERIDAS DÉRMICAS. LESION TRAUMÁTICA CEREBRAL. INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO. TROMBOSIS VENOSA. TROMBOEMBOLISMO.

ABSTRACT.

The objective of this article is to provide a realistic view of dating, which is one of the most specific and difficult issues in forensic pathology. Intimately associated with the diagnosis of vitality (only one vital lesion may be dated), the chronology of the lesions can be crucial, both in violent deaths (injuries, bruises, head trauma, etc.) in a homicidal context, as in natural deaths (myocardial infarctions, pulmonary thromboembolism, etc.) in imputations by malpraxis. A critical review of the bibliography is made from our experience, making a review of the chronological dates in the most frequent circumstances. The chronology of the lesions is based on the appearance of the different elements of the inflammatory reaction, but there is great variability according to age, health of the deceased, medication intake and compromised tissue-organ, which are not taken into account in the published series. In addition, most studies are experimental on animal tissues and employ immunohistochemical or molecular techniques of doubtful applicability to real cases in which autolysis and putrefaction limit the utility of these techniques.

KEY WORDS: VITALITY. DATING. SKIN WOUNDS. TRAUMATIC BRAIN INJURY. ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION. VENOUS THROMBOSIS. THROMBOEMBOLISM.

CONTACTO: M^a Soledad Sánchez de León Robles. Servicio de Histopatología. Dpto. de Madrid. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. C/ José Echegaray, 4. Las Rozas de Madrid. 28232 Madrid. E-mail: soledad.sanchezdeleon@justicia.es

1. INTRODUCCIÓN.

La datación es una de las cuestiones más específicas y difíciles de la patología forense. Íntimamente asociada al diagnóstico de vitalidad (solo una lesión vital puede datarse), la cronología de las lesiones puede ser crucial, tanto en muertes violentas como en las muertes naturales. Forma parte de la labor pericial del histopatólogo forense establecer el tiempo de evolución de las heridas encontradas en una

víctima de homicidio por arma blanca; en un contexto de sospecha de malos tratos, la diferente cronología de las lesiones encontradas, será la prueba definitiva; en fallecimientos ocurridos a consecuencia de lesiones craneoencefálicas diferidas en los que ha habido una agresión o asistencia sanitaria previas, la data de las lesiones es de capital importancia para imputaciones por homicidio o denuncias por malpraxis; los frecuentes casos de muertes súbitas por infarto agudo de

1 Facultativo del Servicio de Histopatología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses

miocardio (IAM) o tromboembolismo pulmonar (TEP) en fallecidos que habían recibido atención médica horas antes de su muerte, son otros ejemplos en los que la datación de los hallazgos tienen gran relevancia. Si bien desde un punto de vista fisiopatológico la cronología de las lesiones se basa en la aparición de los diferentes elementos de la reacción inflamatoria [1-5], existe una gran variabilidad según edad y estado de salud del fallecido y según el tejido-órgano comprometido [6,7].

Por otro lado, la mayor parte de estudios publicados son experimentales, generalmente sobre tejidos animales y en menor medida sobre muestras humanas de autopsia o material quirúrgico [4,8]; siendo la inmunohistoquímica (IHQ) la técnica que más ha contribuido a conocer el mapa de la reacción inflamatoria, lo que nos resuelve el problema sólo en parte, pues en los casos que estudiamos existen factores que condicionan la utilidad de estas técnicas como la calidad de las muestras y los medios técnicos a nuestro alcance [4]. En este trabajo hacemos un repaso de las dataciones histológicas en las circunstancias más frecuentes.

2. DATACIÓN DE LAS HERIDAS EN PIEL Y ÓRGANOS INTERNOS.

El término herida describe la interrupción funcional y morfológica de la continuidad estructural de un tejido [9]. La mayor parte de las heridas que estudiamos en nuestro servicio son muestras de piel con lesiones por arma blanca, heridas contusas o disparos; su etiología médico-legal suele ser homicida (en el contexto de violencia de género, peleas o agresiones) y con menor frecuencia suicida o accidental. En un número menor de casos las muestras de heridas afectan a órganos torácicos (corazón, pulmón), cervicales o abdominales (hígado, bazo o estómago) según el alcance de las diferentes lesiones.

La principal limitación son la autólisis y putrefacción, que interfieren con el diagnóstico de vitalidad y datación, siendo muchas veces imposible la obtención de resultados fiables [4,8]. El otro factor limitante, según nuestra

experiencia, es la escasez de muestra. Es muy importante la correlación macro/microscópica, tal como apunta Van de Goot [10]. Teniendo en cuenta los hallazgos del análisis criminalístico realizado previamente de las heridas cutáneas, se hacen secciones seriadas de los bordes de las heridas, se comprueba su morfología, alcance de la lesión penetrante, presencia y distribución del infiltrado hemorrágico y se seleccionan muestras representativas de los bordes dubitados y zonas control para estudio microscópico. Las tinciones de rutina empleadas son la hematoxilina-eosina (HE), tricrómico de Masson, Weigert (fibras colágenas y reticulina), Perls (siderófagos) y Poley (variante del tricrómico). No solemos utilizar para el estudio de heridas las técnicas de IHQ por la baja rentabilidad obtenida en estudios previos con nuestro material.

El estudio de la reparación de la herida es la base para determinar la vitalidad y su data en el contexto de la patología forense [2,4,11]. La reparación tisular es un complejo fenómeno biológico que comienza tras producirse la lesión y consta de tres fases: inflamación, proliferación y maduración [2]. La reacción vital también incluye fenómenos no inflamatorios como agregación plaquetaria y coagulación sanguínea.

Al consultar las tablas publicadas sobre datación de heridas debemos tener en cuenta la existencia de factores que interfieren con la respuesta inflamatoria y condicionan el diagnóstico de vitalidad y la datación [4,6,7,9]. Estos factores son la edad, tamaño de lesión, tipo de tejido (grado de vascularización), estado de salud de la persona (enfermedades sistémicas o genéticas como la hemofilia, etc.), inmunidad (SIDA), consumo de medicamentos (anticoagulantes) o drogas, etc. Además la mayoría de los estudios se han hecho en muestras de origen animal y pocas proceden de necropsias.

Las muestras de autopsia nos aportan la información más valiosa pues, aunque los estudios en animales tienen ventajas metodológicas como la estandarización de variables (grupo de individuos controlado, misma edad, causa de muerte conocida, zonas

control, etc.), no nos permiten extrapolar los resultados a los casos forenses debido a que los animales presentan mayor rapidez en el proceso de curación de las heridas [3,4,7,8,12]. Por otra parte, las tablas clasifican periodos de aparición de células, mediadores de inflamación o fibras de colágeno, en *precoz*, *medio* y *tardío* o aportan ratios de % de actividad con técnicas de IHQ. Hay que tener en cuenta la variabilidad de los fenómenos y debemos ser cautos en la interpretación de los resultados como absolutamente exactos [9]. Es importante utilizar o buscar varios parámetros simultáneamente (células, fibras o mediadores de actividad inflamatoria), cuya combinación minimice el margen de error y así aumentar la posibilidad de definir la data de la lesión. La aparición de un marcador de inflamación que no existe en individuos sanos indica una reacción vital y la utilización de zonas de referencia control da más fiabilidad al diagnóstico [4]. El diagnóstico diferencial entre lesión vital o postmortem, puede resolverse buscando aquellos parámetros que siempre están ausentes en heridas postmortem.

En la mayoría de los casos que estudiamos, las lesiones se han producido en un momento muy próximo a la muerte y tienen relación directa con ella (como una herida de arma blanca en

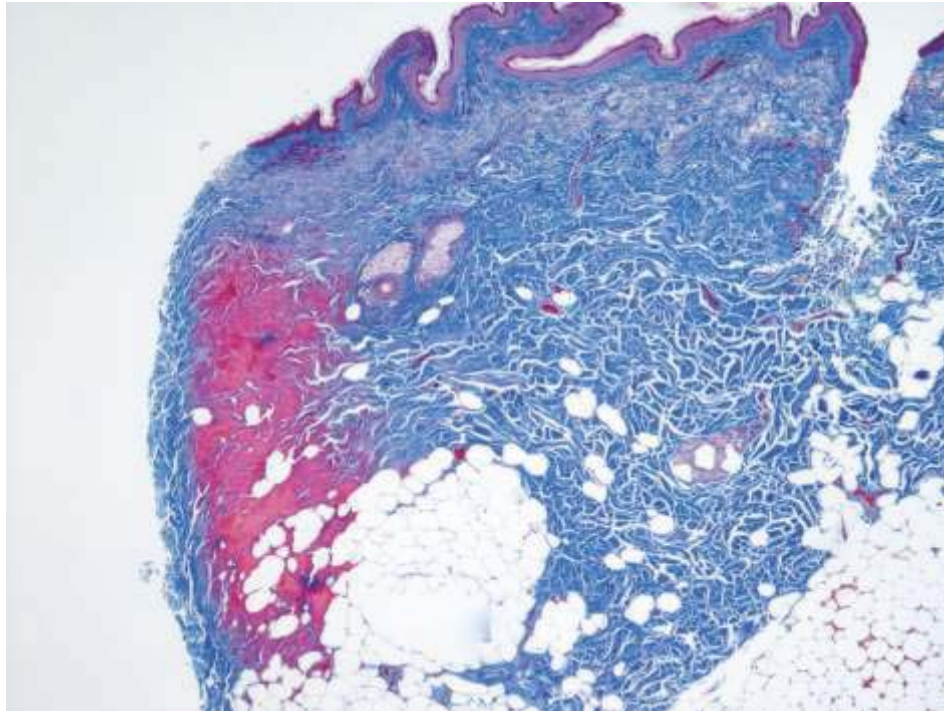
corazón con taponamiento o un degüello homicida o suicida) siendo frecuente el shock hipovolémico como mecanismo de muerte, lo que da lugar al fallecimiento en pocos minutos, menos de 1 h. Debido a esto la reacción inflamatoria pocas veces puede detectarse al microscopio y en este contexto podemos asumir que el estudio histopatológico convencional sólo ofrece una orientación o estimación aproximada de la supervivencia, una data que todo apunta a un periodo de pocos minutos antes de la muerte [9]. En la tabla 1 se exponen los parámetros microscópicos que valoramos en las heridas cutáneas y cardíacas: hemorragia, coágulo fibrino-plaquetario, indicios de inflamación y lesiones en plano muscular según nuestra experiencia y otros autores [1,7,10,13-15]. Se asume que la respuesta inflamatoria y la cicatrización no presenta cambios específicos en las diferentes regiones cutáneas [14] (Fig. 1A.) En el corazón son conocidas las lesiones por heridas penetrantes y sus consecuencias, como taponamiento cardíaco [16]; también está demostrado el significado y distribución de las bandas de contracción, según se trate de los bordes de una herida por arma blanca, disparos o contusiones [15] pero no está acreditada una data concreta diferente a que son lesiones vitales y muy próximas a la muerte (escasos minutos). En otros órganos como pulmón,

Tabla 1: Parámetros micro-morfológicos aplicados en la data de heridas en piel y corazón en los primeros 15 días, apoyados en nuestra casuística y bibliografía [1, 7, 10, 13, 14, 15].

Tejido	Morfología bordes	Hemorragia	Coágulo fibrino-plaquetario	Inflamación/ reparación	Fibras musculares
Piel (arma blanca)	Rectilíneos en heridas arma blanca. Retracción en zona epidermis y fibras elásticas de dermis reticular. Inmediato	Leve y próxima a bordes Inmediato.	Puede aparecer asociado a bordes de herida o zonas de hemorragia. Minutos - 1 h. Máximo de fibrina y neutrófilos (24-72h).	- Fibrina: 15-30 min. - Neutrófilos: 20-30 min; habitual: 15 h; maxima (24-72 h) - Neutrófilos / macrófagos (5:1) de 8-12 h. - Macrófagos: temprana 3 h. - Desintegración neutrófilos desde 16-24 h. - Fibroblastos: temprana 1 d; habitual > 5 d - Sideróforos: temprana 3 d; habitual > 7 d.	Fibras seccionadas, opacas, bordes en embudo próximas al borde. Inmediato.
Cuero cabelludo (herida contusa)	Irregulares y con fibras conectivas desgarradas en contusiones c. cabelludo. Retracción epidermis y dermis reticular Inmediato	Multifocal y en tejido adiposo y difusa en aponeurosis. Inmediato-pocos minutos.	Puede aparecer asociado a bordes de herida o zonas de hemorragia. 30 Minutos- 1 h	- Epitelización completa: temprana 3-5 d >20 d. - Colágeno III: 2-3 d 6 d - Colágeno I: 5-6 d. - Colágeno V y VI: 3-6 d. - Linfocitos: temprana 8 d; habitual > 19 d. - Angiogénesis: 2-3 d 8d-14 d maduración. - Disminuye celularidad, vascularidad: 10-15 d. - Formación cicatriz: semanas-meses	Fibras opacas, bordes en embudo, degeneración segmentaria y discoide en bordes y zonas más alejadas. Inmediato.
Corazón	<u>Arma blanca:</u> rectilíneos. <u>Disparos:</u> bordes irregulares, desgarrados con mayor o menor destrucción. Inmediato	En grasa epicárdica y miocardio, próximas a bordes en arma blanca; multifocales en disparos o trauma.	Depósitos de fibrina y plaquetas en los bordes de la herida. Minutos (perimortal)	No hay tiempo de respuesta por la rapidez del mecanismo (pocos minutos).	<u>Arma blanca:</u> necrosis bandas de contracción en bordes de la herida. <u>Disparos o rotura traumática:</u> zonas de necrosis más extensas y no sólo en bordes de herida. Inmediato.

Histopatología forense: datar o no datar. consideraciones prácticas sobre datación en histopatología forense.
SANCHEZ DE LEON ROBLES MS, SUAREZ MIER MP, CHAVES PORTELA S, LOPEZ GARCIA P.

Figura 1: A) Varón de 59 años. Degüello suicida: herida inciso cortante en el cuello que va desde la línea media a la apófisis mastoides izquierda, que deja ver plano muscular y vasos. Borde de la herida con morfología rectilínea, metacromasia y ausencia de reacción inflamatoria (Tricrómico de Masson, 10x).



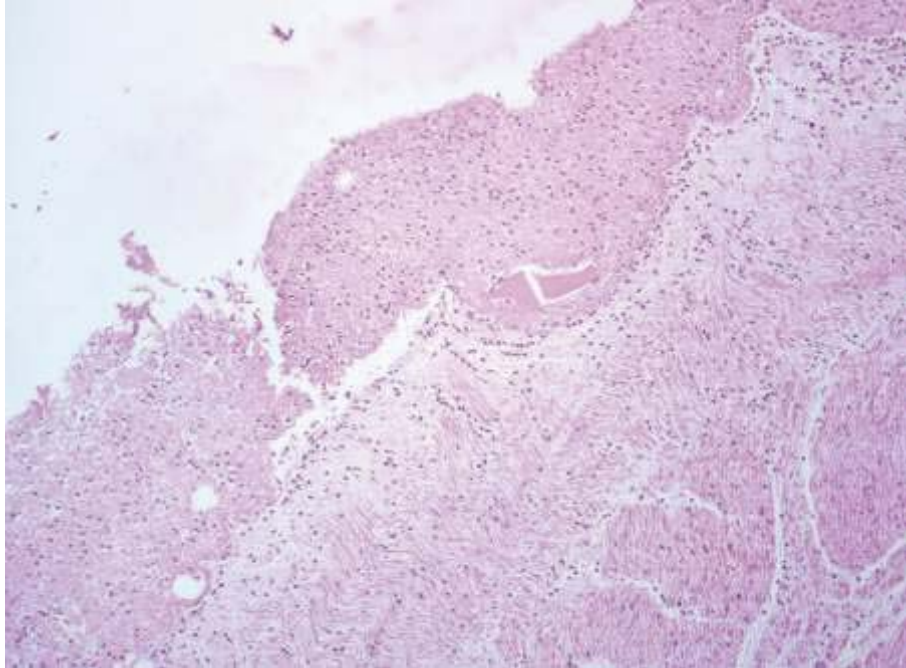
hígado, bazo o estómago, la reacción local detectable ha de encuadrarse en el contexto de hallazgos macroscópicos (como hemotórax, hemoperitoneo o peritonitis). A nivel microscópico esa reacción local suele ser poco expresiva y consiste apenas en leve hemorragia y coágulo fibrino-plaquetario, aunque en algún caso estudiado de herida de homicidio por arma blanca en estómago, se detectó peritonitis fibrinopurulenta, lo que implica supervivencia estimada entre 24-48 h (Fig. 1B).

3. DATACIÓN EN LOS TRAUMATISMOS CRANEOENCEFÁLICOS.

Las situaciones del ámbito forense en las que la datación de las lesiones en el sistema nervioso y sus cubiertas son más demandadas, son aquellas en las que la muerte se produce un tiempo indeterminado tras un traumatismo craneoencefálico (TCE) accidental o

intencionado. En definitiva se trata de dilucidar el tiempo transcurrido entre el traumatismo y la muerte. Itabashi et al. [14] dedican un capítulo a este tema en el que hacen una revisión de la bibliografía disponible y cuestionan las conclusiones de muchos de los estudios publicados al respecto en base a numerosas variables: especie (animal o humana), edad, lesiones focales o difusas (la respuesta celular difiere según el volumen de tejido nervioso afectado); enfermedades pre-existentes y tiempo de agonía; tinciones empleadas (HE o IHQ); combinación de lesiones traumáticas primarias y secundarias; etc. Ahondando en las limitaciones de los datos disponibles, no hemos encontrado ningún trabajo que haga referencia a la evolución de las hemorragias en pacientes anticoagulados, de hecho se excluyen en las series publicadas [17]. Queda así reflejada la dificultad que existe en la datación de las lesiones del sistema nervioso.

Figura 1: B) Mujer de 41 años. Fallece tras agresión con arma blanca en circunstancias poco claras según relato de la familia el día anterior; no acudió al médico y siguió comiendo y bebiendo. Su pareja la encuentra fallecida en la cama. Herida inciso punzante muy pequeña en estómago y abundante líquido peritoneal. Depósitos fibrino-purulentos sobre el peritoneo que engloban fragmentos de fibras musculares (HE, 20 x).



El hematoma / hemorragia subdural (HSD) es sin duda la lesión en la que la data es demandada con más frecuencia. Aunque suele hacerse una aproximación en agudo (<48 horas), subagudo (2-14 días) y crónico (>14 días), en base al aspecto radiológico/macroscópico [18], con frecuencia es solicitada la datación histopatológica (Fig. 2A). Existen tres series de referencia: una de Munro y Merrit de 1936 (utilizada en numerosos textos); otra de Waller et al. de 2009 [17]; y otra de Van den Bos et al. de 2014 [19], que fusiona las tres series y propone una nueva tabla agrupando las alteraciones que aparecen en el mismo periodo de tiempo (tabla 2). Una serie reciente de Rao et al. [20], demuestra la validez del estudio histopatológico con técnicas de rutina para la datación del HSD y los autores proponen una nueva clasificación de para las fases tempranas: agudo (hasta la fagocitosis de hematíes por macrófagos: <24 horas); subagudo precoz (hasta la aparición de neomembrana: 24-114,5 horas); y subagudo

tardío (tras la formación de la neomembrana: >114,5 horas). Pero ninguno de estos trabajos tiene en cuenta factores como el volumen del HSD (determinante del grosor de la neomembrana), edad, duración de la agonía, presión arterial, influencia de alcohol o drogas, función de otros órganos (pulmón, corazón, riñón, etc), ni tampoco, como ya hemos comentado previamente, la evolución en pacientes anticoagulados, gran limitación dada la especial incidencia de estas hemorragias en ancianos tratados con Sintrom. Son necesarios estudios multicéntricos que recopilen gran número de casos individuales (enfermedades concomitantes o medicación) o diferencias asociadas a la edad [19].

En relación a las hemorragias corticales (contusiones) hay que tener en cuenta que tras un TCE se suceden las siguientes fases: 1) destrucción tisular (asociada a lesión vascular con isquemia y/o hemorragia); 2) respuesta inflamatoria celular (plaquetas, neutrófilos y

Figura 2. A) Mujer de 91 años. Diagnóstico en TAC: Hematoma subdural crónico con resangrado agudo. Detalle de neomembrana con fibroblastos, neovasos, hemosiderófagos y hemorragia aguda (a la derecha) compatible con una data superior a 19 días (HE, 20x).

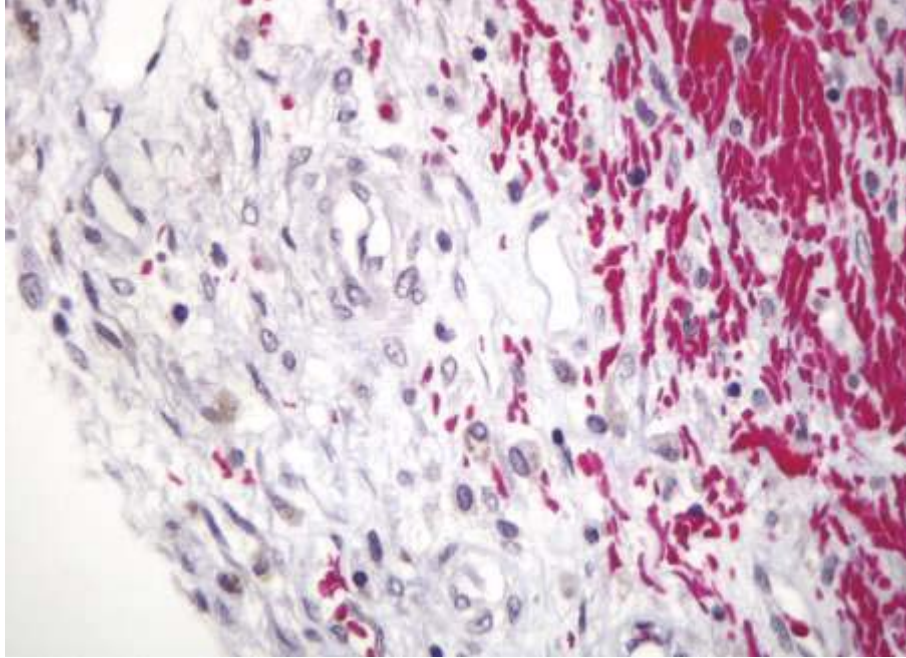


Tabla 2. Cronología de la hemorragia subdural tomado de van den Bos et al. [19] (en paréntesis periodo de mayor intensidad) y de las contusiones corticales modificado de Hausmann [21] y Oehmichen et al. [22].

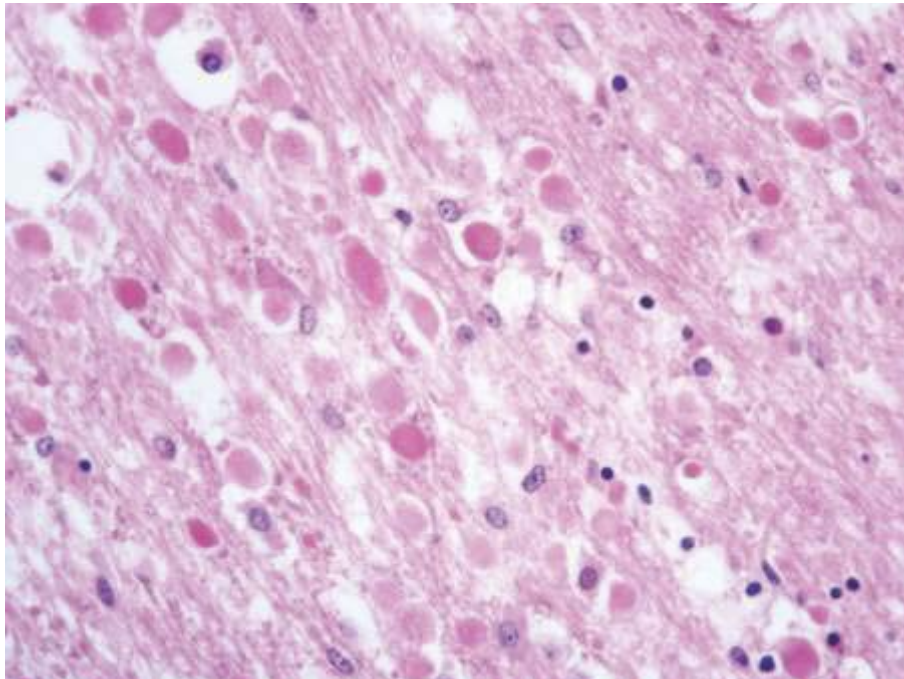
Hemorragia subdural	Periodo de observación [19]	Contusiones cerebrales	Periodo de observación [21]	Periodo de observación [22]
HSD líquido	0-24 h (<12 h)	Respuesta celular		
Hematíes conservados	0h-12 días	- Hematíes	0-5 meses	1 min-150 días
Fibrina en dura o aracnoides	3h-14 días	- Neutrófilos	>2 horas >48 horas	5 min 110 días
Neutrófilos	2h-45 días (<10 días)	- Linfocitos	3-4 días > 44 años	-----
Linfocitos (CD45)	6h-12 días	- Macrófagos	pocas h. >48 horas	11,5 h 58 años
Pérdida forma o contorno hematíes	10 h	- Macrófagos englobando hematíes	-----	12 h 150 días
Macrófagos (CD68)	12h-9 días (>1 día)	- Hemosiderófagos	>48 horas >5 días	4,2 días 44 años
Fibroblastos entran en el coágulo	15h-12 días (>7 días)	- Hematoidina	>6 días 12 meses	12 días 1 año
Hematíes fagocitados	15h-10 días	- Lipófagos	24 horas >3 días	17 h 30 años
Siderófagos en la dura (Perl's)	16h-30 días (>4 días)	Cambios neuronales		
Nidos de angioblastos (CD34)	15h (>2 días)	- Degen/encogimiento	Inmediata 5-6 meses	1 min 150 días
Núcleos fragmentados	21 h-14 días	- Vacuolas	Inmediata	-----
Hematíes licuados	3-7 días	- Incrustación	1-3 horas	-----
Hematíes pálidos	4 días (6-8 días)	- Daño axonal (β-APP)	-----	2,8 h 125 días
Hierro libre (Perl's)	4 días	- Bolas axonales	10-20 h 28 años	15 h 44 años
Proliferación de capilares	5 días	- Neuronofagia	12-24 h 5 días	4,8 h 125 días
Neomembrana < 1/2 espesor dura	7 días	- Mineralización	-----	6 días 44 años
Hebras de fibroblastos en el coágulo	7 días	Cambios gliales		
Aparición de colagenización	7 días	- Hinchazón edematoso	Inmediato	-----
No separación neomemb interna y externa	7 (>55 días)	- Disminución tintorial	>10 minutos	-----
Capilares gigantes	7-120 días	- Hinchazón nuclear	12-24 horas	-----
Vasos medianos de paredes delgadas	8 días	- Proliferación glial	3-4 días	-----
Hematoidina	9 días (<100 días)	- Astrocitos protoplasmáticos	>24 horas 101 horas	-----
Siderófagos en la membrana (Perl's)	10 días	- Astrocitos gemistocíticos(GFAP)	-----	7 horas 35 años
Neomembrana fibrosa	10 días	- Astrocitos con hemosiderina	>5-6 días 8 días	5 días 53 años
		- Astrocitos fibrilares	6 días >26 días	6 días 58 años
		Cambios mesenquimales		
Neomembrana del espesor de la dura	14 días	- Edema	0-9 días	-----
Resangrado	19 días	- Proliferación vascular	>12-24 h 5-7 días	-----
Membrana hialinizada (Elásticas)	27 días	- Fibroblastos / fibrocitos	4-6 días 1 semana	4,4 días 9 años
		- Fibras de colágeno	4-6 días 58 años	5 días 58 años
		- Células endoteliales	-----	3,9 días 53 años

Histopatología forense: datar o no datar. consideraciones prácticas sobre datación en histopatología forense.
SANCHEZ DE LEON ROBLES MS, SUAREZ MIER MP, CHAVES PORTELA S, LOPEZ GARCIA P.

linfocitos), y 3) reacción macrofágica / glial, y gliosis reactiva / cicatriz glial [21]. El momento de aparición de unos y otros es muy variable según las series [14]. En la tabla 2 recogemos la distribución de marcadores por estirpe celular propuesta por Hausmann et al. [21] y la datación obtenida por Oehmichen et al. [22], tras un análisis estadístico de 18 marcadores histológicos en 305 autopsias de fallecidos por traumatismo craneal. La hemorragia es la lesión característica de la rotura vascular traumática y su degradación depende de su extensión. Hay

casos de aparición tardía (hasta 5 meses) que puede deberse a resangrado espontáneo [23]. Por su parte, el daño neuronal ocurre en oleadas de manera que puede observarse en la periferia de las lesiones 5-6 meses tras el trauma inicial [21]. El daño axonal se reconoce como estructuras esféricas eosinófilas (bolas axonales) con HE (Fig. 2B) y se ponen de manifiesto por su inmunopositividad con anticuerpo frente a la proteína precursora de beta amiloide β -APP) a partir de 2 horas [22].

Figura 2. B) Mujer de 71 años. Accidente de tráfico con un mes de supervivencia. Numerosas bolas axonales en protuberancia (HE, 20x).



Las características peculiares del sistema nervioso hacen que el exudado neutrofilico sea escaso y la respuesta inflamatoria mononuclear (linfocitos T) retrasada comparado con otros tejidos [21]. Los neutrófilos pueden verse dentro y alrededor de la hemorragia y aparecen más precozmente cuando hay hemorragia subaracnoidea asociada [23]. En general son visibles a las pocas horas de la lesión aunque con anticuerpo frente a CD15 se han visto en pocos minutos [21]. En el tejido nervioso, el material fagocitado por los macrófagos ha

resultado también útil para la datación de las lesiones traumáticas, siendo los más precoces los macrófagos conteniendo hematíes (12 horas) y los lipófagos (17 h) [22] seguido de los hemosiderófagos (>48 h) y los macrófagos cargados de hemateína (>6 días) [21]. La gliosis reactiva se caracteriza por la hipertrofia y proliferación de células astrogliales que pueden detectarse a las pocas horas con el empleo de anticuerpo frente a la proteína ácido gliofibrilar (GFAP) vimentina, o tenascina [21,22].

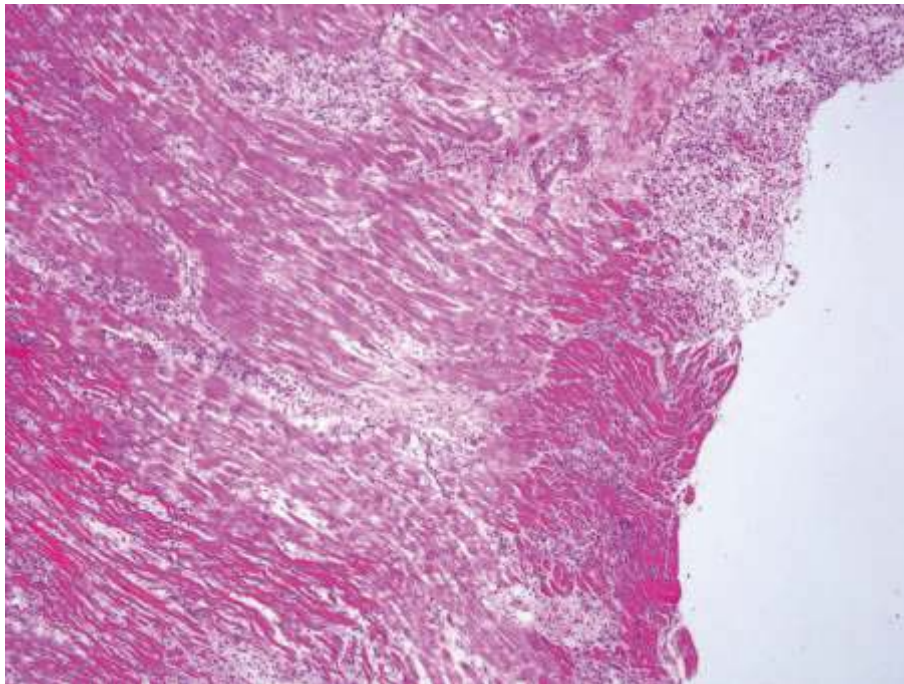
4. DATACIÓN DEL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO.

La cardiopatía isquémica supone la principal causa de muerte en el mundo occidental y la primera causa de muerte súbita cardiaca. En una serie propia de 664 fallecidos por esta entidad, encontramos infartos agudos en un 23% [24]. Varios de estos fallecidos presentaron sintomatología anginosa horas antes del fallecimiento por la que solicitaron atención médica sin que se hiciera un diagnóstico correcto. La datación del infarto en estos casos fue el principal objetivo del estudio histopatológico.

El IAM se define como una necrosis isquémica coagulativa seguida de una respuesta de inflamación y reparación [25]. Las primeras manifestaciones que se pueden observar en el estudio histológico son la hipereosinofilia y ondulación de los miocitos del borde de la lesión, junto con edema intersticial y adelgazamiento del grosor de las fibras. Cuando la necrosis ha avanzado las fibras presentan picnosis nuclear y

eosinofilia citoplasmática. Pero el hallazgo principal es la aparición del infiltrado inflamatorio agudo polimorfonuclear, que comienza en torno a las 8-10 horas, haciéndose máximo en las primeras 72 horas (Fig. 3). Posteriormente y de manera paulatina el componente agudo del infiltrado inflamatorio comienza a disminuir, incrementándose el componente crónico, constituido por linfocitos y macrófagos, que van a ser los encargados de eliminar las fibras necróticas. A partir del séptimo día se observa tejido de granulación en los bordes, desde el cual se va a consolidar el tejido cicatricial observándose una cicatriz fibrosa, a partir de la sexta semana [25-27]. En la tabla 3 se correlacionan los hallazgos macroscópicos y microscópicos con el tiempo de evolución del infarto [27]. Una vez establecida la cicatriz, la datación no es posible ya que puede corresponder a meses o años [8]. Con frecuencia se descubren en un mismo corazón lesiones isquémicas de distinta antigüedad, debiéndose estudiar cada una de forma pormenorizada [25].

Figura 3. Varón de 72 años. Fallece durante la jornada laboral, con el antecedente de dolor precordial una semana antes y tratamiento con Ibuprofeno pautado por su médico. Saco pericárdico a tensión con un gran coágulo. IAM transmural en pared posterior del VI con rotura cardíaca. Se identifican miocitos con necrosis de coagulación, denso infiltrado leucocitario y tejido de granulación compatibles con una data de una semana (HE, 10x).



Histopatología forense: datar o no datar. consideraciones prácticas sobre datación en histopatología forense. SANCHEZ DE LEON ROBLES MS, SUAREZ MIER MP, CHAVES PORTELA S, LOPEZ GARCIA P.

Otros patrones de necrosis miocárdica que se pueden observar son las bandas de contracción, que consisten en masas citoplasmáticas densas, eosinófilas y transversas que corresponden a sarcómeros hipercontraídos debido al aumento de flujo de calcio en las células que están en fase de

contracción [25] y que se produce con mayor frecuencia tras la reperfusión del área de infarto. Es importante señalar que las bandas de contracción no son específicas del IAM y que son un hallazgo frecuente en corazones de fallecidos a los que se les ha practicado maniobras de reanimación con adrenalina. La

Tabla 3. Evolución temporal del infarto de miocardio no reperfundido (Modificado de Robbins [25] y Lucena [27]).

Presentación	Hallazgo macroscópico	Hallazgo microscópico
< 4 horas	Alteraciones solo visibles con técnicas enzimáticas	Habitualmente ninguna alteración. Puede haber ondulación de fibras miocárdicas en el borde
4-12 horas	Ninguna alteración o moteado oscuro	Inicio de la necrosis por coagulación. Edema intersticial y hemorragia
12-24 horas	Moteado rojizo-grisáceo	Hipereosinofilia de miocardiocitos con picnosis nuclear. Inicio del infiltrado inflamatorio polimorfonuclear.
1-3 días	Moteado con área central de aspecto amarillo-oscuro	Necrosis por coagulación con pérdida de núcleos y estriaciones. Infiltrado neutrofilico intersticial
3-7 días	Área central blanda amarillenta delimitada por un borde hiperémico	Inicio del infiltrado macrofágico en el borde del infarto
7-10 días	Máxima evolución del área blanda amarillenta central con márgenes rojizos deprimidos	Fagocitosis de células muertas. Aparición del tejido de granulación en los márgenes del infarto
10-14 días	Color rojo-grisáceo con depresión en los márgenes del infarto	Desaparición de los miocitos necróticos. Tejido de granulación y neovascularización en la periferia
2-8 Semanas	Cicatriz grisácea que lentamente se transforma en blanquecina desde los márgenes al centro del infarto	Depósito de colágeno con áreas acelulares de aspecto geográfico
>2 meses	Cicatrización completa.	Cicatriz compuesta por tejido colágeno denso.

miocitolisis es otra forma de necrosis que suele ser secundaria a una isquemia moderada y prolongada y que consiste en la presencia de edema intracelular en forma de grandes espacios vacuolares, lisis de miofibrillas y escasa respuesta neutrofilica [25]. La HE es la tinción básica y fundamental con la que se trabaja de rutina. Tiene la limitación de que con ella no pueden detectarse los cambios más iniciales y precoces. Es por ello que las investigaciones van encaminadas a identificar marcadores de IHQ y moleculares que permitan detectar las lesiones más tempranas. Sabatasso et al. [28] en su reciente trabajo

desarrollan un modelo de isquemia miocárdica en ratas, ligando la arteria coronaria descendente anterior, con varios intervalos de tiempo y en el que estudian posteriormente, en el miocardio dañado, la expresión de varios marcadores de IHQ, Western blots y análisis de expresión génica. Pese a ser un modelo animal logran identificar un panel de marcadores de isquemia miocárdica no influenciado por factores como la agonía, la resucitación o la autólisis, y que está constituido por troponina I y T, mioglobina, fibronectina, C5b-9, citocromo c, TUNEL, e identifican dos marcadores de IHQ de isquemia miocárdica temprana: Cx43 y JunB.

Estos hallazgos pueden servir como base para futuros estudios.

5. TROMBOEMBOLISMO PULMONAR.

El TEP es una entidad que engloba dos grados consecutivos de la misma enfermedad, la trombosis venosa profunda (TVP) y el embolismo pulmonar (EP). En el 95% de los casos de TEP, los émbolos proceden de las venas de los miembros inferiores. Se forma un trombo localmente que se desplaza en forma de émbolo a través del sistema venoso de retorno hasta el corazón derecho ocluyendo la arteria pulmonar principal, la bifurcación (“émbolo en silla de montar”) o las ramas arteriales de menor tamaño [29- 31]. El TEP es una entidad objeto de estudio en patología forense por diversos motivos: evaluar su aparición en pacientes que han presentado un ingreso por otra/s patología/s, o bien que han acudido al médico en días previos; establecer su correspondencia con un evento traumático reciente; y por último, ser causa de muerte súbita e inesperada. En toda autopsia hay que examinar el tronco de la arteria pulmonar al abrir el tórax y si se

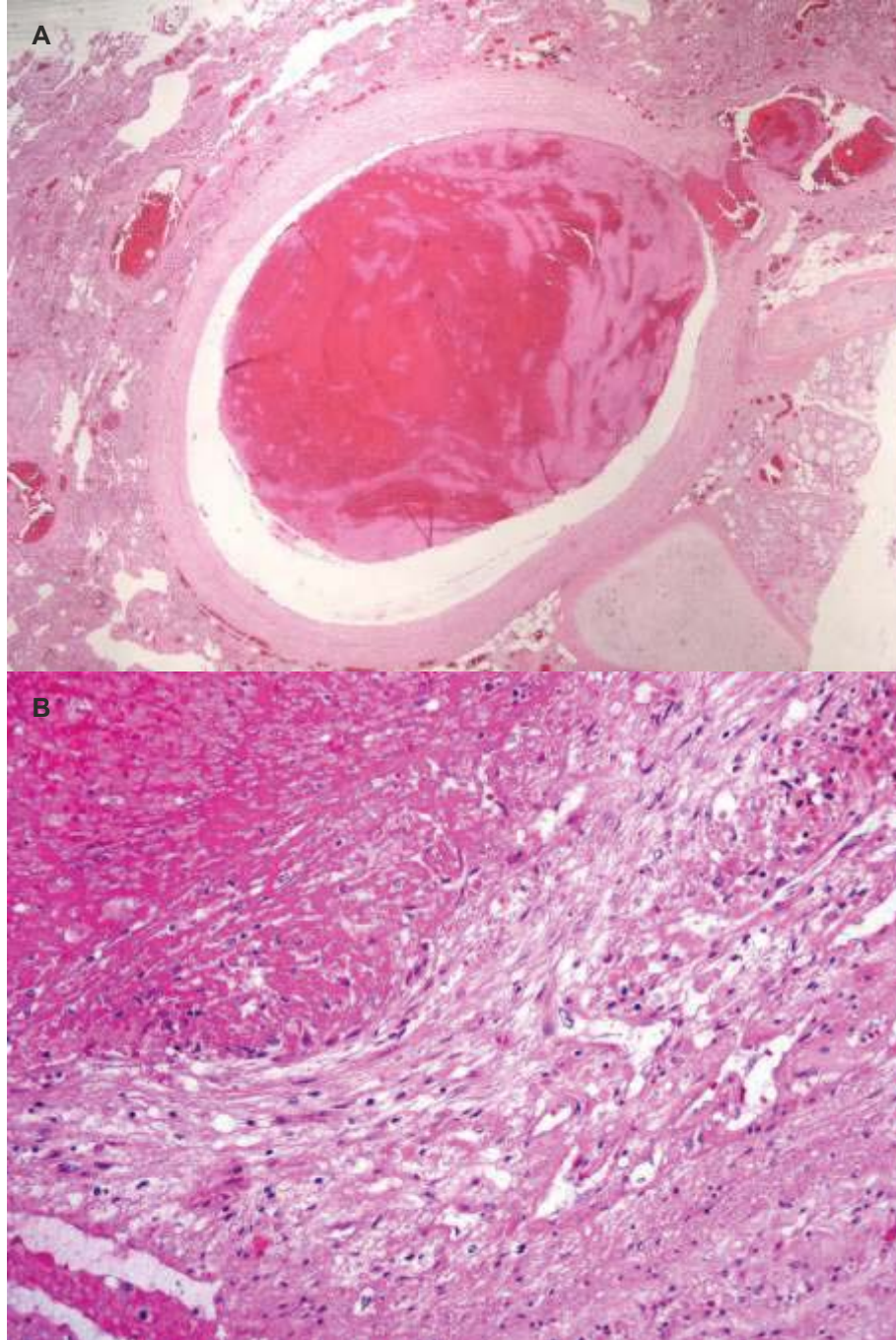
encuentra un trombo, hay que localizar la fuente embolígena disecando los vasos pertinentes. A nivel microscópico se evaluarán los cambios producidos en la pared vascular donde asienta la TVP, el trombo formado en dicha región y el trombo en el lugar de embolización, así como, si fuera posible, las diferentes regiones del trombo (cabeza, cola y secciones centrales), tratando de estimar una data aproximada en cada una de las localizaciones para establecer su evolución cronológica, y ponerla en relación con la causa y el mecanismo de la muerte [32,33]. En nuestra práctica habitual este estudio microscópico se realiza con las técnicas básicas de HE y Tricómico de Masson. En el lugar de origen se describirán las alteraciones que se hayan producido en la pared venosa donde asienta la trombosis, que evolucionan paralelamente a la masa vascular, siendo aquellos estadios cronológicos más utilizados los definidos por Leu et al. [34] y Fineschi et al. [35] (tabla 4). Como no disponemos de estudios que describan la respuesta de la pared arterial pulmonar con el tromboémbolo, en nuestra práctica pericial extrapolamos esa cronología a lo que observamos en el pulmón (**Fig. 4**).

Tabla 4. Evolución temporal del tromboembolismo (modificado de Leu [34] y Fineschi et al. [35]).

Presentación	Reacción de la pared vascular [34]	Presentación	Cambios dentro del trombo [35]
1-4 días	Nada	Fase I: 1-7 días	Erosión del endotelio; agregados de plaquetas con fibrina interpuesta (líneas de Zahn); hematíes aglomerados y preservados; comienza la picnosis de los leucocitos.
4-8 días	Invasión células fusiformes de la íntima al trombo	Fase II: 2-8 semanas	Cambios proliferativos en la capa media con penetración de fibroblastos; hemosiderofagos; sombras de hematíes; entre la fibrina organizada predominan linfocitos atrapados; la superficie libre del trombo cubierta de endotelio
8-12 días	Aparición de las primeras fibras de colágeno que invaden el trombo y capilares	Fase III: > 2 meses	Trombo hialinizado con gran cantidad de capilares y neoangiogenesis de vasos de mayor calibre con hematíes en sus luces; escasa celularidad inflamatoria entre el tejido colágeno denso
12-18 días	Senos capilares dilatados en la periferia del trombo y congestivos		
18-25 días	Mayor colagenización		
25-60 días	Crecimiento y confluencia de los senos capilares		
60 días	Recanalización evidente		

Histopatología forense: datar o no datar. consideraciones prácticas sobre datación en histopatología forense.
SANCHEZ DE LEÓN ROBLES MS, SUAREZ MIER MP, CHAVES PORTELA S, LOPEZ GARCIA P.

Figura 4. Mujer de 79 años. Disnea progresiva de una semana de evolución. A) Trombo laminar reciente impactado en arteria de gran calibre (HE, 4x). B) Senos capilares en la periferia del trombo en zona de unión a la pared vascular compatibles con émbolo de más de 12 días (HE, 20x).



En estudios recientes han tratado de reducirse estos intervalos principalmente mediante el uso de técnicas de IHQ. Entre ellos está el de Fineschi et al. [35] que correlaciona los cambios morfológicos descritos anteriormente en el trombo con la expresión de diferentes anticuerpos (fibrinógeno, CD 61, CD 68, CD 45 y CD 15) en relación a la aparición de sus componentes (fibrina, plaquetas, macrófagos y leucocitos) en casos ya diagnosticados antemortem de TVP y cuya evolución estaba documentada clínicamente. Otros investigadores estudian la expresión de Mieloperoxidasa y F4/80 en leucocitos polimorfonucleares y macrófagos y la expresión de IL-6 en el seno del trombo en ratones de laboratorio [36,37]. Recientemente también se están obteniendo resultados empleando la microscopía confocal para la datación de TVP y cambios cronológicos en los trombos [38]. Sin embargo, como se ha venido comentando en este artículo, los trabajos experimentales con IHQ no son extrapolables a la realidad forense y el estudio microscópico con las técnicas básicas sigue siendo la herramienta esencial en nuestra práctica diaria y, a pesar de los numerosos estudios al respecto, se debe resaltar que los resultados de cada caso se deben interpretar con prudencia, tratando de reunir el mayor número de criterios para establecer una correlación entre ellos y hacer el estudio global de cada caso concreto, y siempre expresando dichos resultados en términos de probabilidad y no de certeza [8].

6. CONSIDERACIONES FINALES.

Realidad nos enseña que el primer problema al que nos enfrentamos es la calidad de la muestra, es decir, si la estructura histológica está lo suficientemente bien conservada para poder buscar los parámetros requeridos. Es indispensable contar con las muestras adecuadas para realizar la datación, como la duramadre en el HSD o las venas profundas en el TEP/TVP.

Existen una serie de factores que influyen de forma cualitativa en la respuesta inflamatoria y por lo tanto, condicionan el diagnóstico de

vitalidad y la datación como son la edad, el tamaño de la lesión, estado de salud, inmunidad, medicación, drogas, etc, pero no hay estudios detallados al respecto.

Al consultar tablas de datación en la bibliografía, hay que tener en cuenta que si se basan en trabajos realizados a partir de muestras de animales, no son extrapolables a la histopatología forense. Por otra parte, en las tablas se establecen unos plazos en la aparición de los marcadores: precoz, habitual y tardío, de difícil aplicación a un caso concreto, por lo que no podemos considerarlos de forma exacta.

Por las limitaciones inherentes a la autólisis y fijación de los tejidos, los mejores marcadores histológicos, tanto para vitalidad como para datación, ya sea con tinciones rutinarias o con IHQ, son aquellos que están presentes solamente en tejidos lesionados y no aparecen en tejidos sanos (muestras control). También es importante buscar varios marcadores para minimizar el margen de error y ajustar la data la más posible.

En nuestra práctica habitual debemos recopilar todos los datos clínicos, circunstancias de la muerte, hallazgos de autopsia, resultados de otros análisis complementarios y evaluar las técnicas y marcadores disponibles. De esta manera, intentaremos realizar una estimación orientativa de la datación, que es la principal cuestión planteada en las citaciones periciales de histopatología forense.

Bibliografía.

1. BETZ P. Histological and enzyme histochemical parameters for the age estimation of human skin wounds. *Int J Leg Med.* 1994;107: 60-68.
2. KONDO T, ISHIDA Y. Molecular pathology of wound healing. *Forensic Sci Int.* 2010;203, 93-98.
3. HERNANDEZ-CUETO C, GIRELA E, SWEET D. Advances in the diagnosis of wound vitality: a review. *Am Journal of Forensic Med Pathol.* 2000; 21(1): 21-31.
4. CECCI R. Estimating wound edge: looking into the future. *Int J Legal Med.* 2010; 124 (6): 523-536.
5. GOMEZ PASCUAL A, MARTINEZ SANCHEZ MC. Estudio histopatológico de la vitalidad en las lesiones. En: Salguero Villadiego M, Blanco Pampín J.

- Histopatología Forense. Ministerio de Justicia. Secretaría General Técnica. Madrid. 2015. Cap. IX: p205-229.
6. VANEZIS P. Interpreting bruises at necropsy. *J Clin Pathol.* 2001; 54: 348-355.
 7. SAUKKO P, KNIGHT B. editors. The pathology of wounds. In: Knight's Forensic Pathology. London: Arnold; 2004. p 136-173.
 8. CABRERIZO MEDINA E, VILLANUEVA DE LA TORRE H, SALGUERO VILLADIEGO M. Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones. *Cuad Med Forense.* 2015;21(3-4):127-134.
 9. OEHMICHEN M. Vitality and time course of wounds. *Forensic Sci Int.* 2004; 144: 221-231.
 10. VAN DE GOOT, FRW. The chronological dating of injury. In: Rutty GN. editor. *Essentials of autopsy practice.* London: Springer-Verlag. 2008. p167-181.
 11. KARA S, AKBABA M, KUL S, BAKIR K. It is possible to make early wound age estimation by immunohistochemical methods?. *Rom J Leg Med.* 2016;(24):92-99.
 12. GRELLNER W, MADEA B. Demands of scientific studies: Vitality of wounds and wound edge estimation. *Forensic Sci Int.* 2007;165:150-154.
 13. RAEKALLIO J. Histological estimation of the age of injuries. In: Perper JA, Wetch CH, editors. *Microscopic diagnosis in forensic pathology.* Illinois: Springfield, 1980. p3-16.
 14. ITABASHI HH, ANDREWS JM, TOMIYASU U, ERLICH SS, SATHYAVAGISWARAN L. Editores. Dating/aging of common lesions in neuropathology. In: *Forensic Neuropathology. A practical review of the fundamentals.* Academic Press, Elsevier. 2007. p. 49-122.
 15. TAKATSUA, KAMIYAM, ISHIYAMA I. The significance of contraction bands in cardiac trauma. *Jpn J Legal Med.* 1981; 35(3):180-190.
 16. LOBO FVO, HEGGTVEIT HA. Cardiovascular trauma. In: Silver, Gottlieb, Schoen editor. *Cardiovascular pathology.* Philadelphia. Churchill Livingstone. 2001. Chapter 18: p 562-582.
 17. WALTER T, MEISSNER C, OEHMICHEN M. Pathomorphological staging of subdural hemorrhages: statistical analysis of posttraumatic histomorphological alterations. *Leg Med.* 2009;11: S56-S62.
 18. GRAHAM DI. Closed head injury. In: Mason JK, Purdue BN editor. *The Pathology of Trauma.* 3 th ed. London: Arnold, 2000. p:191-210.
 19. VAN DEN BOS D, ZOMER S, KUBAT B. Dare to date: age estimation of subdural hematomas, literature, and case analysis. *Int J Legal Med.* 2014;128:631-640.
 20. RAO MG, SINGH D, KUMAR VASHISTA R, KUMAR SHARMA S. Dating of acute and subacute subdural haemorrhage: a histo-pathological study. *J Clin Diag Research.* 2016;10:HC01-HC07.
 21. HAUSMANN R. Timing of cortical contusions in human brain injury. Morphological parameters for a forensic wound-age estimation. In: *Forensic Pathology Reviews.* Ed. M. Tsokos. Human Press, 2004. Cap 3: p. 53-75.
 22. OEHMICHEN M, WALTER T, MEISSNER C, FRIEDRICH HJ. Time course of cortical hemorrhages after closed traumatic brain injury: statistical analysis of posttraumatic histomorphological alterations. *J Neurotraum.* 2003;20:87-103.
 23. OEHMICHEN M, AUER RN, KÖNIG HG editors. Closed brain injuries. In: *Forensic Neuropathology and Neurology.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006. p.177-215.
 24. SUÁREZ-MIER MP, AGULERA TAPIA B. Anatomía patológica en la muerte súbita. En: *Cardio Arritmias.* Editor: Grupo CTO Editorial. 2016. Cap 26: p. 417-438.
 25. KUMAR V. El corazón. En: *Robbins. Patología estructural y funcional.* Ed. Elsevier, 2015. Cap 13: p 571-629.
 26. WALLER BC. The pathology of acute myocardial infarction: Definition, location, pathogenesis, effects of reperfusion, complications and sequelae. *Cardiology Clinics.* 1988;6:1-28.
 27. LUCENA J, GARAMENDI PM, NOMBELA-FRANCO L. Coronary atherosclerotic disease. En: Lucena JS, et al. (eds.). *Clinico-pathological atlas of cardiovascular diseases.* Ed. Springer, 2015. Cap 5: p109-169.
 28. SABATASSO S, MANGIN P, FRACASSON T, MORETTI M, DOCQUIER M, DJONOV V. Early markers for myocardial ischemia and sudden cardiac death. *Int J Legal Med.* 2016;130:1265-1280.
 29. MITCHEL RN. Trastornos hemodinámicos, enfermedad tromboembólica y shock. En: Kumar V, Abbas AK, Fausto N editor. *Robbins y Cotran Patología Estructural y funcional.* 7ª ed: Elsevier Saunders. 2004. P: 121-146.
 30. SCHOEN FJ. Vasos sanguíneos. En: Kumar V, Abbas AK, Fausto N editor. *Robbins y Cotran Patología Estructural y funcional.* 7ª ed: Elsevier Saunders. 2004. P: 517-559.
 31. ROSAI J. Cardiovascular system. In: *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology.* Vol II 10ª ed, Chapter 27. Mosby Elsevier. 2011. P: 2271-2306.
 32. PALOMO RANDO JL, RAMOS MEDINA V, PALOMO GOMEZ I, BAUTISTA OJEDA MD, BLANES BERENQUER A. Abordaje del tromboembolismo pulmonar en la sala de autopsias. *Cuad Med Forense.* 2013;19(1-2): 33-38.

33. GILL JR. The medicolegal evaluation of fatal pulmonary thromboembolism. In: Tsokos M, editor. Forensic Pathology Reviews. Vol.3 Humana Press Inc.,Totowa, NJ;2005. p. 285-322.
34. LEU HJ, LEU MD. Phleboesclerosis, Phlebotrombosis, and Thrombophlebitis: A current perspective. Cardiovasc Pathol. 1996; 5 :183-192.
35. FINESCHI V, TURILLAZZI E, NERI M, POMARA C, RIEZZO I. Histological age determination of venous thrombosis: A neglected forensic task in fatal pulmonary thrombo-embolism. Forensic Science International. 2009; 186: 22-28.
36. NOSAKA M, ISHIDA Y, KIMURA A, KONDO T. Time-dependent appearance of intrathrombus neutrophils and macrophages in a stasis-induced deep vein thrombosis model and its application to thrombus age determination. Int J Legal Med. 2009; 123: 235-240.
37. NOSAKA M, ISHIDA Y, KIMURA A, HAMA M, KAWAGUCHI T, YAMAMOTO H et al. Immunohistochemical detection of intrathrombotic IL-6 and its application to thrombus age estimation. Int J Legal Med. 2014; 129: 1021-1025.
38. TURILLAZZI E, RIEZZO I, NERI M, POMARA C, CECCI R, FINESCHI V. The diagnosis of fatal pulmonary embolism using quantitative morphometry and confocal laser scanning microscopy. Pathol Res Pract. 2008; 204 (4):259-66.