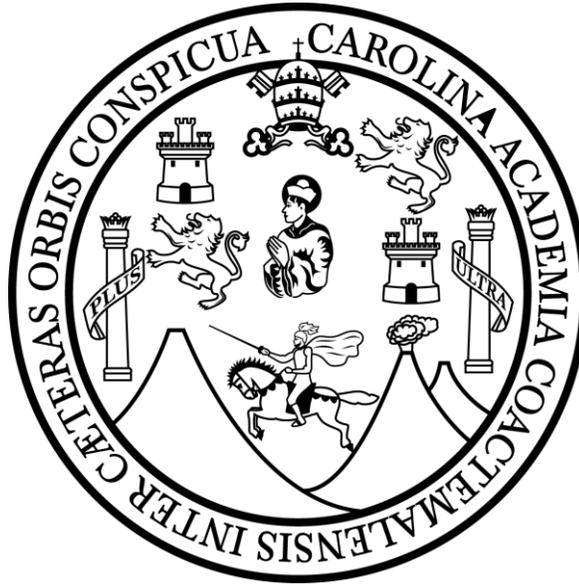


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**  
**ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS**



**TESIS DOCTORAL**

**Estudio histopatológico de la evolución temporal de lesiones en piel y tejidos blandos utilizando técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica, en muestras proveniente de cadáveres del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala.**

Lilian Isabel Cayax Menchu

Tutor: Dr. Erik Suntecun Castellanos

Guatemala, septiembre 2024

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**  
**ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS**

**TESIS DOCTORAL**

**Estudio histopatológico de la evolución temporal de lesiones en piel y tejidos blandos utilizando técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica, en muestras proveniente de cadáveres del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala.**

Lilian Isabel Cayax Menchu  
Tutor: Dr. Erik Suntecun Castellanos

Guatemala, septiembre 2024



# Facultad de Ciencias Médicas

## Universidad de San Carlos de Guatemala

DCB-OIP-001-2024

### ORDEN DE IMPRESIÓN DE TESIS DOCTORAL DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

Nombre del Doctorando: LILIAN ISABEL CAYAX MENCHÚ

Registro Académico No.: 200110001

No. de CUI: 2333 75651 0901

Título de la Tesis Doctoral:

**“ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA EVOLUCIÓN TEMPORAL  
DE LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS UTILIZANDO TÉCNICAS DE  
HISTOQUÍMICA E INMUNOHISTOQUÍMICA, EN MUESTRAS PROVENIENTE DE  
CADÁVERES DEL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS FORENSES DE  
GUATEMALA.”**

Nombre del Tutor: Erik Suntecun Castellanos PhD

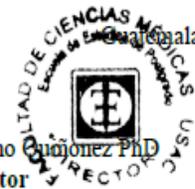
El Director de la Escuela de Estudios de Postgrados, considerando que ante mí se presentan los siguientes documentos: el Acta de Examen de Defensa de Tesis donde consta que el sustentante ha sido aprobado al defender su tesis antes titulada y el dictamen de la Coordinación Académica donde se indica que se ha cumplido con los requisitos necesarios para impresión de tesis como exige el programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Por lo tanto, se **AUTORIZA LA IMPRESIÓN** del documento final, con las características que se establecen en los lineamientos para la presentación de la tesis del Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Guatemala, 09 de septiembre 2024



MSc Alfredo Moreno Guzmón PhD  
Director  
Escuela de Estudios de Postgrado



c.c. Archivo.



## Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

ACTA No.1/2022

**EXAMEN DE DEFENSA DE TESIS DOCTORAL  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

En la Ciudad de Guatemala, a los 3 días, del mes de junio del año dos mil veintidós, siendo las 11:00 horas, reunidos en el Aula Digital del Doctorado en Ciencias Biomédicas, los infrascritos miembros de la terna examinadora que practicaron el **EXAMEN GENERAL PRIVADO DE TESIS DOCTORAL**, a la estudiante:

**LILIAN ISABEL CAYAX MENCHÚ**

Quien presentó su trabajo de tesis y contestó satisfactoriamente todas las preguntas que le fueron formuladas sobre su tesis que se titula.

**“ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS UTILIZANDO TÉCNICAS DE HISTOQUÍMICA E INMUNOHISTOQUÍMICA, EN MUESTRAS PROVENIENTE DE CADÁVERES DEL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS FORENSES DE GUATEMALA.”**

Los Tutores que dirigieron la tesis fueron: Dr. Erik Suntecun Castellanos de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Considerando las proposiciones presentadas en la misma, hemos **APROBADO** por **UNANIMIDAD** de votos con las notas de: **BBB**

Acto continuo la Dra. Elisa del Carmen Hernández López de Rodas, Coordinadora y en nombre de la **UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA** y de la **FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS** y **ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**, le informa al estudiante el resultado del examen, elabora la presente ACTA y envía la misma a la Dirección de la Escuela de Estudios de Postgrado para efectos correspondientes. En fe de lo cual firmamos la presente ACTA en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

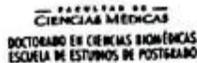
**“ID Y ENSEÑADA TODOS”**

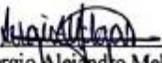
(f)   
Dra. Elisa del Carmen Hernández López de Rodas  
Coordinadora del Examen



(f)   
Dr. Alberto García González  
Miembro de la Terna examinadora

(f)   
Dr. José María Gramajo Garméndez  
Miembro de la Terna examinadora



(f)   
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares  
Miembro de la Terna examinadora

Vo.Bo. (f)   
Dr. Rigoberto Velásquez Paz  
Director de la Escuela de Estudios de Postgrado



Guatemala 28 de abril del año 2020

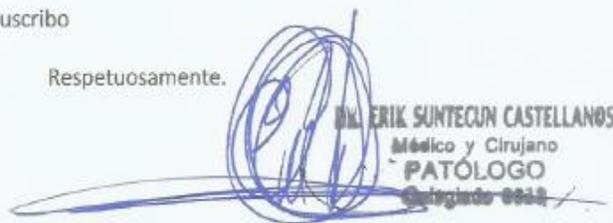
Comité Académico  
Doctorado en Ciencias Biomédicas  
Escuela de Estudios de Postgrado  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Atentamente me dirijo a ustedes, deseando se encuentren bien de salud. El motivo de la presente, es para informarles que como asesor del trabajo de tesis doctoral denominado: **Estudio Histopatológico de la evolución temporal de lesiones en piel y tejidos blandos utilizando técnicas de Histoquímica e Inmunohistoquímica, en muestras provenientes de cadáveres del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala -INACIF-**, desarrollado por la doctora Lilian Isabel Cayax Menchú, estudiante del Doctorado en Ciencias Biomédicas, me es grato indicar que dicho estudio se encuentra en la fase de realización del informe final, el cual está concluyendo en la presente fecha.

No está demás indicar, que se ha llenado la metodología de la Investigación científica y así mismo, la valiosa información biomédica que deja para la universidad y en especial, para las Instituciones que velan por el sistema de justicia de nuestro país.

Sin otro particular, me suscribo

Respetuosamente.



DR. ERIK SUNTECÚN CASTELLANOS  
Médico y Cirujano  
PATÓLOGO  
Colegiado 6653

Dr. Erik Suntecún Castellanos  
Médico -Patólogo  
Maestro en Ciencias Forenses  
Doctor en Criminología y Criminalística  
Colegiado No. 6653

### **De la responsabilidad del trabajo de graduación:**

El autor o autores, es o son los únicos responsables de la originalidad, validez científica, de los conceptos y de las opiniones expresados en el contenido del trabajo de graduación. Su aprobación en manera alguna implica responsabilidad para la Coordinación de Trabajos de Graduación, la Facultad de Ciencias Médicas y la Universidad de San Carlos de Guatemala. Si se llegara a determinar y comprobar que se incurrió en el delito de plagio u otro tipo de fraude, el trabajo de graduación será anulado y el autor o autores deberá o deberán someterse a las medidas legales y disciplinarias correspondientes, tanto de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala y, de las otras instancias competentes, que así lo requieran.

## DEDICATORIA

A mis amados padres Pedro y Ana Luisa

## AGRADECIMIENTOS

Su apoyo hizo posible esta investigación.

Dr. Alberto García. Decano en Funciones 2023-2024,

Dr. Jorge Orellana Oliva. Decano 2019 - 2022,

Facultad de Ciencias Médicas. USAC

## Índice

Contenido	
Resumen.....	10
Marco teórico .....	11
Estudio Físico de Víctimas .....	11
Lesiones Vitales y postmortales.....	11
Evolución temporal de las Lesiones:.....	13
Métodos para determinar la edad de las lesiones: .....	16
Tinciones para localización de macromoléculas y antígenos específicos .....	18
Interpretación de Resultados.....	23
Marco Institucional .....	25
Marco Metodológico .....	26
Sede del estudio .....	26
Diseño .....	26
Tipo de estudio .....	26
Consideraciones Éticas.....	26
Objetivos .....	27
Materiales y Métodos .....	28
Tamaño de la muestra.....	28
Variables.....	28
Cuadro de variables .....	29
Criterios de selección de los grupos de estudio .....	30
Recolección de datos .....	31
Procedimiento .....	31
Análisis de datos .....	33
Discusión .....	38
Conclusiones.....	46
Recomendaciones.....	47
Referencias Bibliográficas .....	48
Apéndice.....	52
Apéndice A. Dictamen bioético .....	52
Apéndice B. Autorización Inacif .....	54
Apéndice C. Procedimiento para investigaciones Inacif .....	55

Apéndice D. Autorización procesamiento de muestras. Centro de Investigaciones Biomédicas .	56
Apéndice E. Boleta recolectora de datos .....	57
Apéndice F. Presupuesto .....	58
Apéndice G. Criterios histológicos en imágenes .....	59
Apéndice H. Modelo de informe complementario.....	61
Apéndice I. Instructivo para el envío y manejo de muestras (propuesta).....	62
Apéndice J. Post de presentación en Inacif y publicaciones.....	66
Apéndice K. Graficas .....	69

## Índice de Tablas

Tabla 1 Estudio histopatológico de piel y tejidos blandos realizadas en cadáveres.....	33
Tabla 2 Sitio de toma de muestras de tejido .....	34
Tabla 3 Lugar de envío de la muestra, edad y sexo. ....	34
Tabla 4 Hallazgos histopatológicos, tinción de hematoxilina-eosina. ....	35
Tabla 5 Reacción vital y otros hallazgos.....	35
Tabla 6 Resultado tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica .....	37
Tabla 7 Antigüedad de las lesiones.....	37

## Lista de abreviaturas y siglas

ABC	Complejo avidina-biotina	EMA	Antígeno de membrana epitelial
ADN	Ácido desoxirribonucleico	H & E	Hematoxilina-eosina
ARN	Ácido ribonucleico	HPV	Virus del papiloma humano
CD62p	Selectina P	HRP	Peroxidasa de rábano
CIB	Centro de Investigaciones Biomédicas	ICAM	Molécula de adhesión intercelular
CK5	Queratina 5	INE	Instituto Nacional de Estadística

INACIF Instituto Nacional de  
Ciencias Forenses

IL-6 Interleucina 6

IL-1 $\beta$  Interleucina 1 beta

MEC matriz extracelular

nm nanómetros

TGF $\alpha$  Factor de crecimiento  
transformante alfa

TGF $\beta$ 1 Factor de crecimiento  
transformante beta 1

TNF $\alpha$  Factor de necrosis  
tumoral

## Resumen

Se examinaron muestras histológicas de cadáveres del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala - Inacif, el 80% de las muestras pertenecían a mujeres, el 70% eran menores de edad, principalmente de áreas urbanas. Al evaluar el estudio histopatológico, la mayoría de las lesiones (94%) mostraron inflamación crónica, indicando una antigüedad de 48 horas o más, se utilizaron técnicas especiales como tinciones histoquímicas e inmunohistoquímica para identificar componentes específicos del tejido reparativo. El marcador colágeno IV fue positivo en 43% de las muestras, evidente en regiones cicatrizales tempranas, el colágeno tipo IV forma el andamiaje de las membranas basales sobre las que se asientan las células de los epitelios, controlan gran número de procesos fisiológicos y reparativos. Queratina 5(CK5) fue positiva en 16% de las muestras, su detección más temprana es al día 13 cuando el epitelio ya fue sustituido, se expresa en las capas basal, intermedia y superficial de los epitelios estratificados, antígeno de membrana epitelial (EMA) fue negativo (útil como control) presente en células epiteliales pero negativo en epitelio escamoso normal; este estudio evidencia que es posible establecer por métodos histológicos convencionales y especiales el tiempo de antigüedad de una lesión, aun en tejidos preservados en formol o parafina, si se protocoliza realizar estudio histopatológico a todos los casos donde se debe determinar la temporalidad de las lesiones, el tejido fresco o reciente poder ofrecer mucha y más valiosa información, lo cual puede ser muy útil en la investigación de muertes violentas.

**Palabras clave:** examen postmortem, estudio histopatológico, reparación de tejido, componentes tisulares, antigüedad de lesiones.

## **Marco teórico**

### **Estudio Físico de Víctimas**

Las excoriaciones y las heridas en piel se consideran lesiones, una excoriación es una lesión superficial de la piel, se curan por regeneración del epitelio, en cuyo caso no se produce cicatriz. Por otra parte, las heridas son una solución de continuidad en la piel que puede extenderse a otros tejidos subyacentes, ocurren por la sobre distensión de la piel que supera el índice de elasticidad. Se distinguen dos tipos de curación, la curación por primera intención se produce en heridas de bordes regulares, en las que no hay infección, después de la retracción de la cicatriz queda una deformación mínima. La curación por segunda intención ocurre en heridas con gran pérdida de tejido o complicadas por la infección, hay mayor cantidad de tejido necrótico, el tejido de granulación es más abundante y pueden quedar cicatrices visibles. (Vargas, 2017) Determinar la edad de una herida es una tarea importante en la patología forense, el progreso reciente en las técnicas forenses ha permitido la evaluación de materiales a nivel celular y molecular, así como la evaluación simultánea de múltiples marcadores. (Li et al., 2020)

### **Lesiones Vitales y postmortales**

Una primera aproximación a la diferenciación entre lesiones vitales y postmortales fue llevada a cabo por Legrand du Saulle, que estableció una serie de signos morfológicos, visibles macroscópicamente, que serían válidos para diferenciar las lesiones vitales de las postmortales, 6 horas antes o después de la muerte. Lesiones vitales: labios de la herida engrosados, infiltrados de sangre y separados por la retracción de los tejidos subyacentes o de la dermis. Luego exudación de linfa y supuración. Hay hemorragia con infiltración en los tejidos adyacentes. Sangre coagulada en el fondo de la herida o sobre la piel.

Lesiones postmortales: los labios de la herida blandos, no engrosados, aproximados y no retraídos. Ausencia de supuración y exudación de linfa. Ausencia de hemorragia arterial ni venosa, ni infiltración de los tejidos. Ausencia de sangre coagulada. Puede no existir hemorragia aun cuando la lesión se haya producido en vida o presentarse en lesiones que se han producido postmortem.

Uno de los retos de los investigadores medicolegales, es reducir el periodo de incertidumbre que estableció Tourdes, 6 horas antes o después de la muerte. Estas lesiones que se dan en torno al momento de la muerte se denominan intermedias o perimortem. En ellas se ha determinado que faltan las reacciones vitales generales, pero pueden darse las reacciones locales. (Sánchez, 2014)

Una de las características de los tejidos vivos es su capacidad de responder ante estímulos externos, cuando el estímulo es una agresión, la reacción tisular consiste en una reacción inflamatoria aguda, proporcional a la magnitud de la agresión. La reacción inflamatoria es un complejo fenómeno constituido por un gran número de procesos bioquímicos, enzimáticos, hemodinámicas, vasculares, celulares y otros fenómenos que se orientan a destruir la noxa y reparar el daño, el conjunto de todos estos procesos se conoce como reacción vital. (Hernández, 2005)

Por otra parte, cuando se consideran los hallazgos histológicos para establecer la reacción vital de las heridas, la infiltración de glóbulos rojos se considera como un signo de reacción vital, pero varios estudios han demostrado que la extravasación de células sanguíneas también puede ocurrir después de la muerte y no puede usarse como un marcador confiable en el diagnóstico de la vitalidad de la herida. (Casse et al., 2016)

El método de tinción Tricrómico de Mallory, se utilizó para determinar la presencia de reacción vital en ratas a través de la acumulación de fibrina mediante la prueba de tres intervalos cortos de tiempo de reacción: 15, 30 y 60 minutos después de la infusión de la herida cutánea. Para todos los intervalos de tiempo probados, se evidenció la presencia de fibrina en los bordes de la herida de la piel. La acumulación de fibrina fue, más pronunciada a los 30 y 60 minutos después de la herida. Se puede concluir que la fibrina es un buen marcador de reacción vital y que se puede detectar muy temprano, dentro de unos minutos después de la lesión. (Obac et al., 2011) Para una mejor diferenciación de los constituyentes del tejido conjuntivo pueden utilizarse tinciones, como el Tricrómico de Masson que revela colágeno o tinciones de Reticulina entre otros.

### **Evolución temporal de las Lesiones:**

Luego de una herida, la barrera externa necesita ser restablecida, este proceso ocurre por la migración de células epiteliales adyacentes a la herida. Los queratinocitos del borde de la herida sufren cambios en su forma tan solo horas de la lesión; se aplanan e inician la división mitótica rápidamente y migran hasta cubrir el defecto en un lapso de 18 a 24 horas. Para cubrir la herida, las células epiteliales toman una forma cilíndrica que inician mitosis para queratinizar la superficie. Las células basales marginales disuelven las uniones intercelulares, crecen y comienzan a migrar sobre la matriz provisional. Las células migratorias aplanadas expresan filamentos de actina, pseudópodos que se unen con las integrinas y secretan diversas metaloproteinasas de matriz para facilitar el movimiento. Después de restablecer el epitelio, los queratinocitos y los fibroblastos secretan laminina y colágeno tipo IV para formar la membrana basal. La reepitelización se completa en unas 48 horas en heridas de bordes aproximados, pero puede durar mucho más en otros tipos de heridas.

En heridas que solo involucran epidermis y dermis superficial, el proceso de reparación consiste en reepitelización, que se produce de anexos epidérmicos. En heridas de espesor total, la epitelización ocurre en los bordes de la herida a una velocidad de 1-2 milímetros/día, en miembros inferiores, pueden llegar a 1cm/mes. Entre 48 y 72 horas después de que ocurre la herida las células que predominan son los macrófagos, superando en número a los neutrófilos. Entre el quinto o séptimo día, el número de células inflamatorias es escaso y son los fibroblastos el tipo celular predominante. Luego ocurre una fase de reparación de tejido, con formación de tejido de granulación, esta fase dura de 10 a 15 días comprende la proliferación de fibroblastos, la angiogénesis y la síntesis de matriz extracelular. La migración de fibroblastos hacia la herida es precoz, alrededor de las 48 horas. Los fibroblastos sintetizan matriz extracelular formada sobre todo por colágeno I y colágeno III, fibronectina y proteoglucanos, participan en la remodelación de la matriz a través de la producción de enzimas proteolíticas, la matriz y las células se orientan según las fuerzas de tracción que ejercen sobre la herida y la cicatriz. La migración de las células endoteliales se efectúa a partir de los vasos más próximos, los capilares neoformados invaden la matriz rica en fibronectina y fibrina. La angiogénesis da lugar a la formación de una red vascular que se hace visible hacia el tercer día hasta el día 15, a continuación, esta red capilar

disminuye progresivamente en el tejido de granulación a medida que se sintetiza el colágeno y la herida evoluciona hacia una cicatriz. A esta fase le sigue la epitelización, esta se desarrolla en varias fases, hay migración de células epiteliales a partir de los bordes o los anejos, multiplicación y por último diferenciación a la epidermis formada. (Cabrerizo et al., 2015; Villalba, 2008) La epitelización es determinante en las heridas poco profundas como las excoriaciones. Los queratinocitos emigran sobre los componentes de la matriz, (fibronectina, colágeno I y IV) orientándose sobre las fibras de colágeno. Al terminar esta fase se produce la colonización de la epidermis por las células de Langerhans y los melanocitos. En la fase de maduración, la remodelación de la matriz extracelular pasa por una fase inflamatoria y proliferativa que se prolonga dos meses después del cierre de la herida, le sigue una fase de regresión que puede durar hasta dos años, poco a poco el tejido de granulación pierde fibroblastos y aparece una estructura más densa de colágeno, al mismo tiempo que la red vascular se organiza, la contracción de la herida concluye hacia el día 21, cuando alcanza el máximo de contenido de colágeno. (Senet, 2008) La cicatrización puede retrasarse por la presencia de tejido necrótico, la migración de queratinocitos y fibroblastos es inhibida por la presencia citoquinas y mediadores de la inflamación. (Villalba, 2008).

La inflamación aguda comprende alteraciones del calibre vascular que aumentan el flujo sanguíneo, lo que permite que proteínas plasmáticas y leucocitos abandonen la circulación, hay migración, acumulación y activación de leucocitos en el foco de la lesión. Aumenta la permeabilidad de los vasos permitiendo derrame de exudado en el intersticio. Hay aumento de la viscosidad sanguínea, provocando estasis; los leucocitos irán marginándose a lo largo del endotelio para su migración al espacio extravascular, los eritrocitos circulan en la parte central, los leucocitos se posicionan en la periferia vascular, y el mismo flujo lento aumenta el número de células leucocitarias en esta posición, proceso denominado marginación. Después los leucocitos ruedan sobre las células endoteliales, hasta que se detienen en un punto específico, se interponen entre endotelio y membrana basal y atraviesan está segregando colagenasas. En la mayoría de las formas de inflamación predominan los neutrófilos, seguido de los monocitos. (Kumar et al., 2021)

Elementos implicados en la respuesta inflamatoria aguda: plasma, células (neutrófilos, monocitos, linfocitos, eosinófilos y basófilos), los vasos sanguíneos y

constituyentes (mastocitos, fibroblastos y macrófagos) y extracelulares (colágeno, elastina, glicoproteínas de adhesión como la fibronectina, laminina, colágeno no fibrilar, tenascina, y proteoglicanos) del tejido conjuntivo; la respuesta celular y vascular de la respuesta inflamatoria aguda está mediada por factores químicos del plasma o de las células activadas por el propio estímulo inflamatorio. (León Regal et al., 2015)

Cuando la respuesta inflamatoria aguda no puede resolverse, ocurre inflamación crónica debido a la persistencia de un agente nocivo o interferencia con el proceso normal. La inflamación crónica se caracteriza por: infiltración por células mononucleares, destrucción tisular por persistencia del agente e intento de curación del tejido dañado por sustitución de tejido conectivo y proliferación de vasos sanguíneos. El macrófago es la célula dominante en la inflamación crónica, la vida de este es de varios meses o años. Otras células de la inflamación crónica como los linfocitos utilizan diversas moléculas de adhesión y quimiocinas para migrar a los sitios de inflamación. (Kumar et al., 2021)

La cicatrización constituye una respuesta básica de los seres vivos y produce el restablecimiento satisfactorio de la integridad de los tejidos cuando se produce una herida, en el proceso intervienen muchos tipos celulares cuyas interrelaciones están reguladas por mediadores químicos. La cicatrización permite la reconstrucción del epitelio estratificado (epidermis), la unión dermoepidérmica, la dermis y su vascularización; se distinguen tres fases, la primera fase de tipo vascular e inflamatorio, la segunda fase es la reparación de los tejidos dérmico y epidérmico, que conduce a la epitelización de la herida, la fase final es la remodelación de la matriz extracelular y maduración de la cicatriz. La fase inicial implica una ruptura de los vasos sanguíneos, se activan los mecanismos de coagulación y la agregación plaquetaria, la extravasación sanguínea aporta proteínas que dan lugar a la formación del coagulo de fibrina, este garantiza la homeostasia y sirve de matriz provisional para la migración de las células inflamatorias, epidérmicas y dérmicas sobre la herida, luego continúa una etapa inflamatoria que permite que las células circulantes lleguen al foco de lesión, los neutrófilos son las primeras células que llegan a la herida y garantizan la limpieza. (Senet, 2008)

Fase de remodelación: El soporte de las células lo da la MEC (matriz extracelular), la cual es dinámica y tiene un balance entre la síntesis, el depósito y la degradación durante el

proceso de cicatrización.. La metaloproteinasa de matriz es la principal enzima que se dedica al balance del depósito y la degradación del colágeno. La cicatriz es el resultado final de la reparación de tejido, no posee apéndices dérmicos, sino que posee un patrón de colágeno con fibras densamente empaquetadas, distinto a la piel sana. La remodelación para formar una cicatriz madura, avascular y a celular, ocurre desde meses hasta 1-2 años desde la lesión. Al inicio, la cicatriz es rojiza debido a su gran red de capilares, los cuales van a retroceder hasta quedar pocos y, por ende, la coloración rojiza va disminuyendo hasta tornarse hipopigmentada en la cicatriz madura. Sin embargo, puede ser hiperpigmentada según el pigmento de la piel o la exposición solar. Durante la remodelación, también aumenta la fuerza tensil de la cicatriz y se correlaciona con el entrelazado de colágeno, sin embargo, solo llega a un 80% de la fuerza tensil de la piel sana. Es por esta razón que las cicatrices son frágiles, menos elásticas y presentan colores, texturas y contornos distinto (Romero, 2016)

#### **Métodos para determinar la edad de las lesiones:**

La aparición o desaparición de ciertos componentes o elementos en los tejidos permite determinar la antigüedad de una lesión; "el estudio microscópico de las lesiones es equivalente al estudio del inicio y progresión del proceso inflamatorio y reparativo", (Cabrerizo et al., 2015, p.128) no obstante la determinación específica de los componentes celulares y su tiempo de aparición y desaparición requiere de un estudio y análisis minucioso, los métodos histoquímicos enzimáticos permiten diferenciar la edad de la herida especialmente en el intervalo de unas pocas horas, (Betz, 1994) la utilización de técnicas de Inmunohistoquímica, permiten identificar los constituyentes del tejido y establecer el tiempo aproximado de antigüedad de una lesión.

La histología es la rama de la ciencia que estudia los tejidos y con esta finalidad se han desarrollado diversas técnicas de preparación de tal manera que los tejidos a observar en el microscopio óptico se asemejen a su estado natural, los pasos necesarios para la preparación de tejidos observados en microscopía óptica incluyen fijación, deshidratación y aclaramiento, inclusión, corte, montaje y tinción. Los colorantes empleados con más frecuencia son Hematoxilina y Eosina (H & E), la hematoxilina tiñe de manera referente los componentes ácidos de la célula que están en el núcleo ADN y ARN y en regiones del citoplasma ticas en ribosomas, estos se tiñen de color azul oscuro y se denominan basófilicos,

la eosina tiñe los componentes básicos de la célula de color rosado, las regiones del citoplasma se tiñen de esa tonalidad, por lo que conocen como acidófilos. (Gartner & Hiatt, 2008)

La tinción histológica de rutina forma la base de la determinación de la edad de las heridas de la piel humana, la detección de granulocitos neutrófilos aproximadamente 20-30 minutos después de la herida, permite establecer la vitalidad de una lesión, la infiltración intensiva de granulocitos en el área de la herida, así como un aumento relevante en los macrófagos, solo se pueden esperar varias horas después de la lesión, los macrófagos con fagocitosis diferenciada, muestran un tiempo de supervivencia de al menos 2-3 días, la presencia de infiltrados de linfocitos con grupos en el tejido de granulación indican un tiempo de supervivencia de al menos 1 semana. (Betz, 1994)

En un estudio se tomaron muestras de excoriaciones provenientes de cadáveres que se encontraban en diferentes estadios de evolución, se estableció el rango cronológico de dichas lesiones. A las muestras se les realizó estudio histológico, tomando en consideración la profundidad de la lesión, el edema en dermis y epidermis, el infiltrado inflamatorio perivascular, así como la formación de tejido de granulación. Todas las muestras presentaron edema a nivel de la dermis, no se evidenció infiltrado inflamatorio, tejido de granulación ni recubrimiento epitelial. En las excoriaciones pertenecientes al grupo con 24 a 48 horas de evolución, se observó infiltrado inflamatorio en la lesión a base de polimorfonucleares. El recubrimiento epitelial y el tejido de granulación, no se observaron en este grupo. Entre los casos correspondientes a 3 y 5 días de evolución, la profundidad de la lesión involucró hasta la dermis papilar. El infiltrado perivascular de polimorfonucleares en el sitio de la lesión es intenso, además hay presencia de fibrina y linfocitos. Se observó además tejido de granulación sin recubrimiento epitelial. En el grupo entre los 6 a 10 días de evolución, se observó intenso infiltrado perivascular de polimorfonucleares, así como una marcada reacción inflamatoria a base de polimorfonucleares y linfocitos. La formación de tejido de granulación fue intensa, y el recubrimiento epitelial estaba en un estadio inicial. En los casos donde las lesiones se produjeron al menos 8 horas antes de la muerte se evidenció la presencia de polimorfonucleares perivasculares. Los grupos comprendidos entre las 24 a 48 horas, 3 a 5 días y 6 a 10 días, histológicamente difieren en relación con el grado de

intensidad de la respuesta inflamatoria, que se hace más intenso en relación con el mayor tiempo de evolución. Con respecto a la formación de tejido de granulación, este se encontró en lesiones con más de 3 días de evolución y el recubrimiento epitelial se comenzó a observar a partir del día 6. (Jiménez, 2014)

### **Tinciones para localización de macromoléculas y antígenos específicos**

La Inmunohistoquímica, las pruebas bioquímicas y las técnicas de biología molecular se utilizan principalmente para estudiar cuestiones de vitalidad y edad de la herida. Los estudios deben cumplir criterios básicos en cuanto a métodos apropiados, selección del material del caso, análisis de resultados y control de calidad. Las investigaciones pueden basarse en muestras de tejido humano (material de autopsia, muestras vitales) o experimentos con animales. Es indispensable un número de casos suficiente que permita el análisis estadístico. (Grellner & Madea, 2007)

La histoquímica es un método de tinción de tejidos que proporciona información sobre la presencia y localización de macromoléculas intracelulares y extracelulares, con ella es posible localizar constituyentes específicos de tejidos y células. Este método aprovecha la actividad enzimática, reactividad química y otros fenómenos fisicoquímicos; las reacciones de interés se tornan evidentes mediante la formación de un precipitado insoluble que toma cierto color. (Gartner, Leslie; Hiatt, James, 2008) Estudios histoquímicos enzimáticos son ventajosos para la diferenciación de los tiempos de supervivencia en el rango de unas pocas horas y se puede observar un aumento en la actividad de esterasa inespecífica en fibroblastos del área de la herida al menos aproximadamente 1 hora después, seguido de los cambios correspondientes de la fosfatasa ácida después de aproximadamente 2 horas. Los resultados enfatizan la importancia especial de obtener resultados positivos para la determinación de la edad de la herida. (Betz, 1994)

La Inmunohistoquímica es una técnica de laboratorio utilizada para detectar antígenos específicos (proteínas) en los tejidos o en las células basándose en el reconocimiento antígeno-anticuerpo. Busca aprovechar la especificidad proporcionada por la unión de un anticuerpo con un antígeno a nivel de microscopía óptica. (Dabbs et al., 2019)

Los procedimientos bioquímicos tienen ventajas de estandarización, garantía de calidad, análisis cuantitativo, evaluación estadística y disponibilidad de múltiples

marcadores, se han detectado algunos problemas en la selección y recolección de materiales y la aplicabilidad de los procedimientos analíticos. La patología molecular forense implica ciencias médicas aplicadas para investigar, posibles aplicaciones incluyen análisis de patología local, incluyendo lesión tisular, isquemia/hipoxia e inflamación en el sitio de la agresión o daño tisular específico por intoxicación, respuestas sistémicas a la violencia o peligros ambientales, trastornos debido a la intoxicación entre otros. (Maeda et al., 2011; Maeda et al., 2010)

La Inmunohistoquímica ofrece ventajas que la han convertido en el método de elección en las investigaciones sobre esta materia, se ha demostrado que elementos como colágeno, citocinas y factores de crecimiento son marcadores útiles para la determinación de la edad de la herida. (Hernández, 2005) La coagulación se produce en heridas vitales, el análisis de marcadores de coagulación de la sangre en la hemorragia de la herida podría ser un factor discriminatorio. Hay estudios que pretenden desarrollar un sistema de puntuación de probabilidad de la edad de la herida, basado en los niveles de expresión inmunohistoquímico de Fibronectina, CD62p y Factor VIII. (van de Goot et al., 2014)

Se han desarrollado una variedad de tinciones especiales para facilitar el reconocimiento y el diagnóstico de las células, con mayor frecuencia permiten resaltar o enfatizar características celulares o histológicas que respaldan una interpretación particular. Un anticuerpo es una molécula que tiene la propiedad de combinarse específicamente con una segunda molécula, denominada antígeno (proteína). La producción de un anticuerpo por un ser vivo se induce específicamente por la presencia del antígeno correspondiente, lo cual constituye la respuesta inmune básica. La evaluación de un anticuerpo para su uso en inmunohistoquímica se basa en dos puntos principales, la sensibilidad y la especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo. (Dabbs et al., 2019)

En los estudios dirigidos a determinar la evolución de las lesiones, los anticuerpos a utilizar identifican componentes del proceso inflamatorio y reparativo, al hacer evidente la presencia de esos elementos se puede establecer la evolución de una lesión, si esta información se relacionan los hallazgos de la autopsia y con los antecedentes del caso, el dictamen forense podrá tener un mayor valor probatorio. (Cabrerizo et al., 2015)

La fibronectina juega un papel importante en la reparación de tejidos y la cicatrización de heridas, la fibronectina podría ser un marcador de vitalidad para heridas con un tiempo de supervivencia de más de unos pocos minutos. La glicoproteína fibronectina aparece en plasma y en forma fibrilar como componente de la matriz extracelular. En la piel normal está presente en varias membranas basales, apéndices cutáneos, en la dermis papilar y, en menor medida, en extensión en la dermis reticular, desempeña un papel esencial en la regeneración de tejidos, cicatrización de heridas, quimiotaxis de fibroblastos, adhesión y migración celular, además la fibronectina podría ser un marcador de vitalidad para heridas cutáneas con un tiempo de supervivencia superior a unos pocos minutos. Algunos marcadores son prometedores, como  $TNF\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ,  $TGF\alpha$  o  $TGF\beta 1$ . En particular, los anticuerpos deben probarse en numerosas heridas post mortem. De hecho, existe un riesgo crítico de sobreexpresión en heridas postmortem, y algunos marcadores interesantes han sido invalidados secundariamente debido a una falsa positividad postmortem, por ejemplo, fibronectina y P-selectina. (Grellner et al., 1998)

La cicatrización de heridas es un proceso biológico complejo que implica quimiotaxis y división de células, neovascularización, síntesis de proteínas de la matriz extracelular y remodelación de la cicatriz. Se ha demostrado que los factores de crecimiento peptídicos regulan muchos de estos procesos *in vitro*, lo que lleva a la hipótesis de que los factores de crecimiento peptídicos también regulan fases importantes de la cicatrización de heridas *in vivo*. (Bennett & Schultz, 1993)

Componente principal de proceso de cicatrización es la fibronectina, esta es una proteína adhesiva, que se encuentra libre en el plasma y constituye uno de los principales componentes de la matriz extracelular. Esta proteína tiene capacidad de interactuar con diversas células y macromoléculas, influyendo en el comportamiento celular y en las reacciones bioquímicas de diversos sistemas, así como en una gran variedad de procesos como fagocitosis, proliferación, adhesión y migración celular. Entre sus principales funciones está la de intervenir en la remodelación de los tejidos durante la embriogénesis y participar en el proceso de cicatrización de una lesión vascular después de la formación de un coágulo de fibrina. (Lucena et al., 2007)

Después de restablecer el epitelio, los queratinocitos y los fibroblastos secretan laminina y colágeno tipo IV para formar la membrana basal. La reepitelización se completa en unas 48 horas en heridas de bordes aproximados, pero puede durar mucho más en otros tipos de heridas. El depósito de la matriz en una herida sigue un patrón, primero, la matriz temprana es de colágeno tipo III y fibronectina; luego, de glucosaminoglicanos y proteoglicanos, y, por último, el colágeno tipo I forma la matriz final. La cantidad llega a una meseta en unas dos o tres semanas. Con el reordenamiento de las fibras y el cambio del colágeno tipo III por tipo I, la fuerza tensil continúa aumentando, lo que ayuda a regresar a una relación 4:1, como en la piel normal. Otro componente de la matriz extracelular son los proteoglicanos [principalmente ácido hialurónico], le brindan gran cantidad de agua a la cicatriz inmadura, que durante la remodelación regresa a su dosis normal. (Romero, 2016)

Las moléculas de los anticuerpos no pueden verse con el microscopio óptico ni tampoco con el microscopio electrónico a menos que estén marcadas o señalizadas mediante algún método que permita su visualización. Esencialmente los métodos de detección usan etiquetas o marcadores a los anticuerpos primarios o secundarios para visualizar la localización del antígeno anticuerpo diana en las secciones de tejido. Se ha usado una variedad de marcas o etiquetas que incluyen compuestos fluorescentes y enzimas activas que pueden visualizarse por su propiedad de inducir la formación de un producto de reacción coloreada a partir de un sistema de sustrato adecuado. (Dabbs et al., 2019)

Recuperación antigénica: durante la fijación con formalina se forman compuestos cálculosos y se producen puentes metilo cruzados entre las proteínas, que afectan las zonas antigénicas y deben eliminarse para obtener un resultado óptimo. La recuperación antigénica se realiza mediante incubación con calor, en torno a los 100 grados centígrados, en búferes de citrato o EDTA. Menos frecuente se usan enzimas proteolíticas, sin calentamiento, que dejan un fondo mayor y favorecen el desprendimiento del tejido. (Vaquero, 2007)

Procedimiento de biotina-avidina. Aprovecha la unión de alta afinidad entre la biotina y la avidina, la biotina puede unirse químicamente al anticuerpo primario para producir un conjugado biotinilado que se localiza en los sitios antígeno dentro de la sección. El procedimiento ABC sirve para localizar varias moléculas de HRP en el sitio del antígeno. El método B-SA supera varios de los problemas asociados con los sistemas ABC al sustituir la

avidina por estreptavidina y conjugar directamente la estreptavidina con la molécula de la enzima. La estreptavidina tiene propiedades de unión similares a la avidina de la clara de huevo. Es útil en la detección de antígenos acoplados a anticuerpos secundarios biotinilados. Hay varias ventajas cuando se usa estreptavidina frente a un complejo de avidina (ABC). A diferencia de la avidina, la estreptavidina no está glicosilada y, por lo tanto, se descarga a pH neutro (6,5 frente a 10). Esto reduce la tinción de fondo no específica. Otra ventaja clave de la estreptavidina es el aumento significativo de la sensibilidad (probablemente debido a un menor impedimento estérico), lo que facilita un aumento en la capacidad de unión general. Finalmente, los conjugados de estreptavidina-enzima son mucho más estables que un complejo ABC. El complejo ABC debe estar recién hecho 30 minutos antes de su uso y es estable solo por unos pocos días. Por el contrario, un conjugado de estreptavidina se puede almacenar hasta 1-2 años. El sistema de detección Starr Trek de Biocare, se ha desarrollado para proporcionar un aumento significativo en la sensibilidad a la tinción. El sistema se puede utilizar con anticuerpos primarios de ratón y conejo. Después de marcar el antígeno con un anticuerpo primario, se agrega un anticuerpo secundario universal, biotinilado y purificado por afinidad para unirse al anticuerpo primario. A continuación, se añade estreptavidina marcada con peroxidasa de rábano picante (HRP) para unirse al anticuerpo secundario biotinilado. Luego se aplica un cromógeno/sustrato que reacciona con una enzima específica para producir una señal de color intenso. Los sistemas de detección de Starr Trek funcionan bien con tejidos incrustados en parafina, secciones congeladas y preparaciones de células. (Biocare Medical, 2019)

Montaje de láminas: Una tinción ligera con hematoxilina es fundamental para permitir que se pueda discernir cualquier localización nuclear del cromógeno. Podría ser necesario controlar el desarrollo de la prueba por microscopia para determinar el tiempo óptimo de contraste. Para los cromógenos solubles en alcohol se usa un medio de montaje acuoso, debe evitarse que queden burbujas de aire atrapadas en el cubreobjetos y en la sección de tejido. Para los cromógenos insolubles en alcohol debe usarse un medio de montaje permanente. Debido a la gran variabilidad en la fijación y en el procesamiento de muestras entre los laboratorios, no ha sido posible establecer un protocolo estándar universal para las pruebas de inmunohistoquímica. (Dabbs et al., 2019)

## **Interpretación de Resultados**

La Inmunohistoquímica puede ayudar al diagnóstico de vitalidad de las heridas cutáneas, pero tiene limitaciones. Es necesario el uso de varios marcadores, la comparación del borde de la herida con un control y se tendrán más en cuenta los resultados positivos que los negativos. Dificultan la interpretación las áreas de hemorragia y puede generar falsos positivos. Se ha demostrado que los colágenos, las citocinas y los factores de crecimiento son candidatos y marcadores útiles para la determinación de la vitalidad o edad de la herida. (Hernández, 2005)

La descripción breve y simplificada de la cicatrización de heridas se puede adoptar para determinar la vitalidad o la edad de las heridas en medicina forense. Walcher y Orsos fueron los primeros en destacar, basándose en sus experiencias prácticas, que la determinación de la vitalidad o edad de la herida era indispensable en la práctica forense. En la década de 1960, Raekallio desarrolló evidencias biológicas en la determinación de la edad de las heridas, con la investigación de la actividad de varias enzimas en los sitios de las heridas. (Kondo, 2007)

Análisis de imagen: Para analizar una imagen digital tomada de un tejido procesado por inmunohistoquímica se presupone que hay una relación directa entre la señal y la cantidad de antígeno, y que por lo tanto una mayor intensidad de tinción corresponde con una mayor concentración antigénica. A pesar de que el análisis de imagen reduce el error a la hora de evaluar una tinción inmunohistoquímica, es necesario que las muestras a comparar sigan exactamente el mismo protocolo antes de tomar la imagen digital: recolección, fijación, inclusión, tratamiento de recuperación de antígenos, e inmunotinción. De otra manera se pueden obtener resultados erróneos. (Megias et al., 2023)

Algunas de las tinciones empleadas para el estudio de la evolución de las lesiones son las siguientes: factor de crecimiento epidérmico alfa (TGF-alfa), interleucina beta (IL-1beta), molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), tenascina, Colágeno I, III, V, VI, laminina, membrana basal epitelial (fragmento Lm), Queratina 5 y otros, su detección temprana, marcada reacción o detección tardía, se establece en días, semanas y meses. (Cabrerizo et al., 2015) Un espectro de anticuerpos primarios permite determinaciones precisas de la edad de una herida, los inconvenientes se relacionan al número de muestras por herida en la piel, así

como las condiciones ambientales. Para la cuantificación del resultado, se seguirá en general la siguiente pauta: Negativo (-): total negatividad o menos del 50% de las células “diana” con menor intensidad que el control; Positividad débil (+/-): más del 50% de las células “diana” con menor intensidad que el control; Positivo (+): más del 50% de las células “diana” con igual o mayor intensidad que el control. El límite entre negativo y positivo débil o positivo se hace por comparación, utilizando un control interno existente u otro ad hoc. (Vaquero, 2007)

Recientemente, Takamiya y colaboradores. analizaron simultáneamente varias citoquinas como IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  en heridas dérmicas humanas para estimación de la edad de la herida mediante el uso de un sistema de matriz de cuentas multiplex. IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  aumentaron desde la fase temprana de la cicatrización de heridas dérmicas, IL-6 exclusivamente en la fase media, IL-2, IL-4 e IL-8 desde la fase media. fase a la fase tardía. (Kondo & Ishida, 2010)

Marcadores de utilidad: Las citoqueratinas son marcadores de la diferenciación epitelial, Ck5 es una citoqueratina de alto peso molecular, que se expresa en las capas estratificadas de epitelio basal, intermedio y superficial, Es un marcador de diferenciación escamosa que resulta positivo en la epidermis y en el epitelio de los anejos (Dabbs et al., 2019; Fuertes et al., 2013) Es un polipéptido básico (tipo II) expresado por el epitelio de células escamosas. Las citoqueratinas son polipéptidos fibrosos de tipo alfa con un diámetro de 7–11 nm. Son componentes del citoesqueleto en casi todas las células epiteliales. En la regeneración de tejidos su detección más temprana es al día 13 cuando el epitelio ya fue sustituido, tinción completa de lámina basal hacia el día 23. (Cabrerizo et al., 2015)

La composición de la matriz extracelular de todos los vertebrados está dominada por una clase de moléculas conocidas como colágenos, cada una con una característica única adaptada a su función y ubicación. El colágeno tipo IV es un componente importante de las membranas basales. El colágeno tipo IV forma el andamiaje de las membranas basales sobre las que se asientan las células de los epitelios, controlan gran número de procesos fisiológicos y reparativos. Especificidad: Usando tinción Inmunohistoquímica de láminas basales, el anticuerpo reconoce un epítipo ubicado en las cadenas  $\alpha 1$  y / o  $\alpha 2$  del colágeno humano tipo IV. (Dabbs et al., 2019)

El antígeno epitelial de membrana (EMA) es una proteína glucosilada, se expresa específicamente en la superficie de epitelios glandulares. En la piel normal se ha demostrado su presencia en las glándulas sebáceas, tanto en el ducto excretor como en los sebocitos. Este antígeno no se expresa en epitelio escamoso normal. (Vaquero, 2007; Dabbs et al., 2019) Este antígeno fue de utilidad como control ya que está presente en las células epiteliales, pero es negativo en epitelio escamoso normal).

De acuerdo a Gellner y Kondo la detección más temprana en la heridas en piel humana de Colágeno IV es al día 4, pudiendo extenderse por varios meses (el máximo contenido de colágeno se alcanza hacia el día 21) cuando concluye la contracción de la herida; CK5 su detección más temprana es al día 13, con marcada reacción a partir día 23, momento en el cual ocurre la tercera fase de epitelización con diferenciación de la epidermis formada (Kondo, 2007; Grellner & Madea, 2007); mientras que el antígeno epitelial de membrana EMA exclusivo de anexos cutáneos (Biocare Medical, 2019), se observaría en dermis normal o en aquella en la cual no hay lesión de estratos profundos de la piel, en tejido cicatrizal en dermis se espera sea negativa, pues hay una actividad fibroblástica responsable de una gran producción de fibras de colágeno gruesas y hialinizadas, ya que los anexos cutáneos que han sido destruidos en la línea de incisión se pierden de forma permanente. (Senet, 2008; Kumar et al., 2021)

### **Marco Institucional**

El Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala -Inacif- fue creado mediante el Decreto 32-2006 del Congreso de la República de Guatemala el ocho de septiembre de dos mil seis. Su finalidad es la prestación del servicio de investigación científica de forma independiente emitiendo dictámenes técnicos científicos que doten a la función jurisdiccional, con medios de prueba válidos y fehacientes en los procesos judiciales. (Ley Orgánica del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, Decreto 32-2006, 2006)

De los años 2014 a 2018, Inacif, realizó un promedio de 6,500 autopsias por año, un gran porcentaje relacionadas a violencia. En el área de patología forense de Inacif se realizan las necropsias medico legales para establecer la causa de la muerte y recolectar indicios que orienten al investigador; cuando un médico forense realiza el examen externo de un cadáver

y encuentra lesiones como excoriaciones o heridas, debe establecer si las lesiones fueron realizadas en vida y si es posible estimar el tiempo en el cual fueron efectuadas. (Inacif, 2019) El laboratorio de histopatología de Inacif realiza estudios de tejidos y células para determinar la presencia de procesos patológicos que pudieran haber incidido en casos cuyo contexto debe ser aclarado desde la perspectiva médico y legal. (Inacif, 2020)

## **Marco Metodológico**

### **Sede del estudio**

Morgue Central y Laboratorio de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, localizado en Zona 3, Ciudad de Guatemala y Laboratorio de Patología del Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala, localizado en zona 11 de ciudad de Guatemala.

### **Diseño**

Observacional, descriptivo, transversal.

### **Tipo de estudio**

Estudio descriptivo, establece las características de la evolución temporal de las lesiones, de acuerdo con el estudio histopatológico de tejidos, la técnica utilizada fue Estudio de caso, con la cual se realiza un análisis minucioso del suceso.

### **Consideraciones Éticas**

De acuerdo con Normas Éticas Internacionales de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los principios éticos, deben aplicarse en los protocolos de investigación, como normas y principios para proteger a los seres humanos. (Organización Panamericana de la Salud y Consejo de Organizaciones Internacionales de la Ciencias Médicas, 2016). Dado que en esta investigación se realizó análisis de documentos, muestras de tejidos, láminas y bloques de parafina en el Laboratorio de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, se solicitó aval del proyecto al Comité de Bioética en Investigación en Salud de la Facultad de Ciencias Médicas, el Comité en su Dictamen correspondiente clasificó la investigación como Categoría I (Riesgo Mínimo) que comprende los estudios que utilizan técnicas observacionales, donde no se realiza ninguna intervención o modificación

intencional en las variables fisiológicas, psicológicas o sociales de las personas que participan en el estudio. Mediante oficio Código 00-07 Dictamen Bioético de fecha 8 de mayo 2019, informa que el proyecto se encuentra Aprobado con la siguiente recomendación: Por la importancia y el valor social que tiene la realización del estudio, este comité solicita tanto a la persona encargada de la revisión como del asesoramiento, que oriente y proporcione el acompañamiento necesario, así como la vigilancia del buen desempeño y realización de la investigación. (Anexo 1)

Previamente se solicitó la autorización para la realización de la investigación a la Dirección del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala Inacif, quien mediante Oficio-DI-IDC.20.2018 del 27 de noviembre 2018 resuelve favorablemente para que se desarrolle la investigación (anexo 2). Se especifica que se debe seguir la metodología establecida en el proyecto presentado, los criterios éticos de la investigación científica y los establecidos en el PRO-DG-IDC-001 del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala. (Anexo 3). El procedimiento establecido para la realización de Investigaciones Científicas, contenido en el formulario PRO-DG-IDC-001, contempla la firma de un Compromiso de Confidencialidad del Investigador, por ende, no se mencionan datos personales, pues además muchos casos están aún en investigación y bajo reserva.

Posteriormente se solicitó la autorización para realizar el procesamiento de las muestras en el Laboratorio de Patología del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala -CIB-, mediante oficio Ref.CIB.051.2019, de fecha 10 de abril 2019, se autoriza el procesamiento de muestras (anexo 4).

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Establecer la evolución temporal de las lesiones en piel y tejidos blandos, por la identificación específica de componentes celulares utilizando tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica.

## Objetivos Específicos

1. Establecer y caracterizar el número de casos en que la evaluación postmortem de médico forense estableció la presencia de lesiones en piel y tejidos blandos y se les realizó estudio histopatológico.
2. Determinar en piel y tejidos blandos, la presencia de componentes celulares y tisulares dependientes de inflamación aguda, crónica y reparativa cicatrizal mediante tinción de hematoxilina-eosina.
3. Identificar constituyentes del tejido reparativo o cicatrizal utilizando tinción de histoquímica (Tricrómico de Masson).
4. Identificar de forma específica los componentes del tejido reparativo o cicatrizal utilizando las tinciones de inmunohistoquímica.
5. Establecer el tiempo probable de antigüedad de las lesiones por la presencia o ausencia de componentes celulares, marcados con histoquímica e inmunohistoquímica.

## Materiales y Métodos

### Tamaño de la muestra

En el Laboratorio de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, de 2014 a 2018 se procesaron 909 muestras histopatológicas, las cuales fueron revisadas, se identificaron 98 muestras relacionadas a piel y tejidos blandos, que forman parte del estudio definitivo.

### Variables

#### Independientes

Número de estudios histopatológicos relacionados a piel y tejidos blandos.

#### Dependientes

Número de casos aptos para estudio (tejido bien preservado)

Número de casos con inflamación aguda

Número de casos con inflamación crónica

Número de casos con cambios reparativo/cicatrizal

Número de casos positivos a tinción de Tricrómico de Masson

Número de casos reactivos a Colágeno IV

Número de casos reactivos a Queratina (CK5)

Número de casos reactivos a Antígeno de Membrana Epitelial (EMA)

**Cuadro de variables**

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Unidad de medida
Tejido apto para estudio,	El tejido tiñe adecuadamente para resaltar diferentes componentes celulares y tisulares,	Los componentes celulares y tisulares se distinguen fácilmente con tinción Hematoxilina y Eosina (H&E)	Nominal	Apto  No apto
Inflamación aguda	Predominio de neutrófilos, seguido de los monocitos en los tejidos examinados	Se observan neutrófilos y monocitos en el tejido examinado	Nominal	Presente Ausente
Inflamación crónica	Predominio de macrófagos y linfocitos en los tejidos examinados	Se observan macrófagos y linfocitos en los tejidos examinados	Nominal	Presente Ausente
Reparación de tejido	Presencia de: <input type="checkbox"/> Angiogénesis: Formación de nuevos vasos sanguíneos <input type="checkbox"/> Formación de tejido de granulación: fibroblastos, colágeno.	Se observa angiogénesis y fibroblastos en el tejido observado	Nominal	Presente Ausente
Cicatrización	El colágeno tipo III (inicial) es reemplazado por colágeno tipo I. Después de restablecer el epitelio, los queratinocitos y los fibroblastos secretan laminina y colágeno tipo IV para formar la membrana basal.	Se observa proliferación de fibras de colágeno.	Nominal	Presente Ausente
Tinción Tricromico de Mason	Utilizada para diferenciar y visualizar colágeno, la tinción resalta eficazmente la estructura específica en el tejido,	Algunas áreas de tejido se tiñen de color azul o verde, identificando colágeno	Nominal	Reactivo No reactivo
Colágeno IV	El colágeno tipo IV forma el andamiaje de las membranas basales sobre las que se asientan las células de los epitelios, controla gran número de procesos reparativos.	Las áreas positivas para colágeno tipo IV se observan bajo un microscopio, mostrando una coloración específica.	Nominal	Detección temprana Marcada Reacción Negativo
Queratina CK5	Proporciona soporte estructural a las células y juega un papel en la diferenciación y proliferación celular. Proteína se expresa principalmente en células epiteliales basales.	Las áreas positivas para CK5 se observan bajo un microscopio. La tinción suele ser marrón	Nominal	Detección temprana Marcada Reacción Negativo

Antígeno de Membrana Epitelial EMA	Glicoproteína de membrana expresada en la superficie de células epiteliales normales. Relacionada a la protección de la superficie epitelial, involucrada en procesos como proliferación y diferenciación celular.	Las áreas positivas para EMA se observan bajo un microscopio, generalmente mostrando una coloración específica (usualmente marrón).	Nominal	Detección temprana Marcada Reacción Negativo
------------------------------------	--	---	---------	--

## **Criterios de selección de los grupos de estudio**

### ***Criterios de Inclusión***

Todos los estudios histopatológicos relacionados a piel y tejidos blandos, recibidos en el laboratorio entre el 01 de enero 2014 al 31 de diciembre 2018.

### ***Criterios de Exclusión***

Todos los estudios histopatológicos que no correspondan a piel o tejidos blandos.

### ***Criterios de no inclusión***

Casos con autólisis, es requisito indispensable para realizar esta investigación que el tejido este bien conservado, la Inmunohistoquímica tiene como objetivo hacer visible un antígeno específico, que generalmente es una proteína, si estas están desnaturalizadas (autólisis) no hay positividad o reacción. (Cabrerizo et al., 2015)

### ***Criterios de interpretación***

Infiltrado inflamatorio agudo	antigüedad de 4 a 48 horas
Infiltrado inflamatorio crónico	antigüedad mayor de 48 horas
Presencia de Angiogénesis	antigüedad mayor de 3 días
Tinción de Tricrómico positivo	Presencia de colágeno, antigüedad mayor a 3días
Colágeno IV positivo	Detección más temprana 4días
	Detección tardía: varios meses
Queratina positiva	Detección más temprana 13 días
	Marcada reacción hacia el día 23
Antígeno de membrana epitelial positiva	Positivo en anexos de piel normal
	Negativo en cicatrización

Al tener los resultados de las tinciones de hematoxilina y eosina, Tricrómico de Masson e inmunohistoquímica: Colágeno IV, Queratina (CK5) y antígeno de membrana epitelial (EMA), se interpretaron de acuerdo con parámetros establecidos para inflamación aguda, crónica y reparativa cicatrizal (Betz, 1994; Senet, 2008; Villalba, 2008; Cabrerizo et al., 2015)

### **Recolección de datos**

Se elaboró una boleta recolectora de datos que contenía la siguiente información: número correlativo, número de registro (histopatología), fecha de toma de la muestra, número de bloques de parafina, número de láminas, tejido analizado, diagnóstico histopatológico, resultado de tinción histoquímica e inmunohistoquímica (positivo-negativo o no reactivo), tiempo estimado de antigüedad, observaciones y responsable (anexo 5).

### **Procedimiento**

1. En el laboratorio de Histopatología del Instituto Nacional de Ciencias Forenses – Inacif-, se revisaron 909 casos en los archivos documentales, láminas y bloques de parafina de los años 2014 a 2018, se identificaron 98 muestras relacionadas a piel y tejidos blandos.
2. A los bloques de parafina de esas 98 muestras se les realizaron nuevos cortes obteniendo laminas adicionales con tejido, la primera de ellas fue teñida con hematoxilina-eosina, para determinar si el tejido estaba bien preservado y era adecuado para continuar en el estudio, 92 muestras fueron adecuadas.
3. En el Laboratorio de Patología del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas, se realizó nueva tinción de H&E, identificando y marcando en las láminas las áreas de interés. Se realizó tinción Tricrómico de Mason que permitió establecer la presencia de colágeno en áreas específicas de los tejidos estudiados.
4. Se tomaron los bloques de los tejidos seleccionados (marcados previamente en las laminillas), se realizó desparafinado y retiro de fragmentos de 2.5 cm, con los cuales se realizó nueva inclusión y secciones delgadas, los cortes se montaron en portaobjetos con carga positiva, se colocaron en "arreglos" de hasta 6 fragmentos por lamina para ahorrar tiempos y costos.

5. Se realizo la selección de anticuerpos primarios y se utilizó el sistema de detección de "Starr Trek" de Biocare, el cual funciono adecuadamente, se identificó el método de marcado apropiado, se estableció tiempo, concentración, protocolos y controles. Se adjunta cotización del costo de los marcadores. (anexo 6)
6. Se realizo tratamiento de recuperación de antígenos e inmunotinción, los "arreglos" fueron teñidos con marcadores colágeno IV, queratina (CK5) y antígeno de membrana epitelial (EMA). Se seleccionaron estos antígenos por estar presentes en el proceso reparativo o cicatrizal, EMA funciono como control.
7. Al tener los resultados de las tinciones de hematoxilina y eosina, Tricrómico de Masson e inmunohistoquímica: Colágeno IV, Queratina (CK5) y antígeno de membrana epitelial (EMA), se revisaron e identificaron componentes de acuerdo con el tiempo de aparición dentro del proceso inflamatorio y reparativo según los criterios citados en el apartado criterios de interpretación.
8. Se documentaron fotográficamente las láminas con los marcadores positivos, identificando los hallazgos histológicos relacionados a inflamación y reparación. (anexo 7).
9. Se elabora modelo de informe que incorpore fotografías y la información complementaria en relación con la antigüedad de las lesiones y se entrega al departamento de Capacitación y Desarrollo (anexo 8)
10. Durante la investigación se evidenciaron muestras con cierto grado de autolisis, esto obedece a que las mismas procedían de cadáveres en estado de putrefacción o no se ejecutó un adecuado manejo y envío de las muestras, por lo que se elabora una propuesta de "Instructivo para el envío y manejo de las muestras" el cual se entrega a Jefatura del Unidad y al Departamento de Capacitación y Desarrollo Científico (anexo 9)
11. Se entrego informe final de la investigación al Departamento de Capacitación y desarrollo Científico de Inacif para revisión y aprobación. Con el respaldo del Área de Investigación y Desarrollo Científico se realizó la presentación de la Investigación a las autoridades del Inacif e invitados de la Academia Iberoamericana de Criminalística y Estudios Forenses, mediante enlace virtual en plataforma Zoom, en el año 2020. Lo resultados y aportes de la

investigación se publicaron en dos revistas indexadas en los años 2020 y 2024. (anexo 10)

### **Análisis de datos**

Cada uno de los casos que formaron parte del estudio fue evaluado microscópicamente, utilizando la tinción de H&E, Histoquímica utilizando Tricrómico de Masson e Inmunohistoquímica utilizando Colágeno IV, CK 5 y EMA, indicando el tipo de inflamación o reparación encontrada y de acuerdo con los componentes observados se colocó la temporalidad aproximada de la lesión en horas y días. La recopilación de datos se había realizado a través de una boleta elaborada para el efecto, se colocaron los datos en una tabla en formato Excel, se realiza análisis descriptivo de los datos. Los casos fueron documentados fotográficamente. El procesamiento incluyó el filtrado de datos y presentación en forma de gráficos (ver anexo 11), lo cual permitió detectar la temporalidad de las lesiones analizadas, la interpretación y extraer conclusiones a partir de los datos de la muestra.

### **Resultados**

En cinco años (2014-2018) en el Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala se realizaron un promedio de 30,000 necropsias, se le realizó estudio histopatológico al 3%. De los 909 estudio histopatológicos se encontraron 98 muestras relacionadas a piel y tejidos blandos, 86 de ellas relacionadas a zona genital (Tabla 1).

*Tabla 1 Estudio histopatológico de piel y tejidos blandos realizadas en cadáveres*

EVALUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS REALIZADAS EN CADAVERES				
Estudios histopatológicos de cinco años 2014-2018	Muestra de lesiones relacionadas a piel o tejidos blandos	Muestras aptas para estudio histopatológico	Muestras relacionadas al área genital, para genital o extra genital	Muestras con autolisis avanzada
909	98	92	86	6
100%	11%	10%	9%	
Fuente Inacif 2019				

En cuanto al sitio de toma de muestra, se identificaron un 30% de muestras del bloque anogenital, algunas muestras incluían mucosa rectal, otro porcentaje de muestras provenían únicamente de región genital (vulva, vagina). Se encontraron muestras de otras regiones como cuello y cavidad oral. (Tabla 2).

Tabla 2 Sitio de toma de muestras de tejido

EVOLUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS SITIO DE TOMA DE MUESTRAS DE TEJIDO	
Bloque anogenital completo	30%
Región anal y mucosas rectal	28%
Región genital (vulva, vagina y estructuras relacionadas)	10%
Piel y tejidos blandos (región paragenital)	18%
Piel y tejidos blandos de otras regiones (cavidad oral, cuello)	14%
	100%
Fuente: Inacif 2019	

La mayoría de las muestras (86%) provenían del área metropolitana), un pequeño porcentaje de los departamentos. Siete de cada diez muestras pertenecía a menores de edad de entre los 2 y 16 años. Ocho de cada 10 muestras pertenecían a mujeres (Tabla 3).

Tabla 3 Lugar de envío de la muestra, edad y sexo.

EVOLUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS LUGAR DE ENVIO DE LA MUESTRA, EDAD Y SEXO.		
Envío de la muestra	Morgue Central	86%
	Departamentos	14%
Edad	2 a 16 años	71%
	Adultos	29%
Sexo	Femenino	84%
	Masculino	16%
Fuente: Inacif 2019		

Se realizaron nuevos cortes y tinción H & E para evaluar si el tejido era apto para estudio, se excluyeron 6 muestras con autolisis severa. En evaluar los tejidos predominaba

la inflamación crónica en el 95% de los casos, la angiogénesis se presentó en el 24% de casos (Tabla 4).

*Tabla 4 Hallazgos histopatológicos, tinción de hematoxilina-eosina.*

EVOLUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS HALLAZGOS HISTOPATOLOGICOS, TINCIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA.		
Diagnostico Histopatológico	Número de casos	porcentaje
Normal	2	2%
Inflamación aguda	3	3%
Inflamación crónica	87	95%
Angiogénesis (asociada a inflamación)	22	(24) %
Total	92 casos	
Fuente Inacif 2019		

El 93 % tenían reacción vital, es decir las lesiones fueron realizadas cuando la víctima estaba viva, el 7% ocurrieron cuando la víctima había fallecido. En el 11% de los casos se encontraron quemaduras y en el 7% de los casos infecciones asociadas: HPV y Candidiasis (Tabla 5).

*Tabla 5 Reacción vital y otros hallazgos*

EVOLUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS REACCION VITAL Y OTROS HALLAZGOS		
Vitalidad de las lesiones	Reacción vital	93%
	Sin reacción vital	7%
Otros	Quemaduras	11%
	Infecciones	7%
Fuente Inacif 2019		

La evaluación histológica de los tejidos con tinción de H & E, demostró la presencia de componentes relacionados a cicatrización, además de permitir la valoración de las lesiones inflamatorias; la presencia de elementos del proceso inflamatorio agudo sitúan la lesión en un periodo menor a 48 horas, la presencia de elementos del proceso inflamatorio crónico indican que la lesión tiene un tiempo superior a 48 horas, la presencia de angiogénesis (nuevos vasos) sitúa la antigüedad entre el día 3 y el día 15. La tinción de Tricrómico de Masson demostró la presencia de colágeno y elementos cicatrizales, lo cual se encuentra hacia el día 4. (Tabla 6)

El marcador colágeno IV fue positivo en 40 casos (43%), evidente en regiones cicatrizales tempranas, el colágeno tipo IV forma el andamiaje de las membranas basales sobre las que se asientan las células de los epitelios, controlan gran número de procesos fisiológicos y reparativos. Queratina 5(CK5) fue positiva en 15 casos (16%), su detección más temprana es al día 13 cuando el epitelio ya fue sustituido, se expresa en las capas basal, intermedia y superficial de los epitelios estratificados, antígeno de membrana epitelial (EMA) fue negativo (útil como control) presente en las células epiteliales pero negativo en epitelio escamoso normal.

La presencia de los marcadores de inmunohistoquímica se evaluó de acuerdo con el tiempo de supervivencia de los componentes identificados, tomando en cuenta parámetros publicados de Grellner y Kondo. La detección más temprana en la heridas en piel humana de Colágeno IV es al día 4, pudiendo extenderse por varios meses (el máximo contenido de colágeno se alcanza hacia el día 21) cuando concluye la contracción de la herida; CK5 su detección más temprana es al día 13, con marcada reacción a partir día 23, momento en el cual ocurre la tercera fase de epitelización con diferenciación de la epidermis formada (Kondo, 2007; Grellner & Madea, 2007; Kondo & Ishida, 2010); mientras que el antígeno epitelial de membrana EMA exclusivo de anexos cutáneos, se observaría en dermis normal o en aquella en la cual no hay lesión de estratos profundos de la piel, en tejido cicatrizal en dermis se espera sea negativa, pues hay una actividad fibroblástica responsable de una gran producción de fibras de colágeno gruesas e hialinizadas, ya que los anexos cutáneos que han sido destruidos en la línea de incisión se pierden de forma permanente. (Megias et al., 2023, Dabbs et al., 2019)

Tabla 6 Resultado tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica

EVOLUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS RESULTADO TINCIONES DE HISTOQUIMICA E INMUNOHISTOQUIMICA		
Tinción	Resultado	Número de casos
IQ-Tricromico de Masson	Positivo	86
IHQ-Colágeno IV	Marcada reacción	40
IHQ-Queratina (CK5)	Detección temprana	15
IHQ-Antígeno de membrana epitelial EMA	Negativo	92
Fuente Inacif 2019		

El estudio histopatológico permite determinar la presencia de lesiones asociadas a inflamación aguda y crónica o proceso reparativo, lo cual establece una data en el tiempo de antigüedad de la lesión. Además, al realizar tinciones de histoquímica o inmunohistoquímica se obtiene la detección específica de un componente que tienen un tiempo de aparición o de desaparición dentro del proceso reparativo, lo que permite establecer un rango de tiempo, durante el cual, el componente está presente y relacionarlo con en el proceso inflamatorio o reparativo.

De 92 muestras de piel y mucosas, 87 (95%) mostraban inflamación crónica, lo que evidencio que las lesiones tenían 48 horas de evolución, de ellas 22 demostraron angiogénesis, lo que indica que tales lesiones tenían un tiempo de evolución superior a 3 días, el colágeno IV positivo o con marcada reacción indico que la lesión tiene una antigüedad superior a 4 días, la tinción de CK5 se haría positiva del día 13 al 23, por ende, las lesiones positivas a este marcador tendrían una antigüedad mayor a trece días. EMA fue negativa, esta se haría positiva en anexo cutáneo de dermis normal, no así en cicatrices. (Tabla 7)

Tabla 7 Antigüedad de las lesiones

EVOLUCION TEMPORAL DE LAS LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS ANTIGUEDAD DE LAS LESIONES				
Tinción Utilizada	Hallazgos	Número de casos	Antigüedad	Interpretación
Hematoxilina-eosina	Normal	2		Lesión reciente, perimortem, con reacción vital

	Inflamación aguda	3	0-48 horas	Lesión con tiempo de antigüedad menor a 48 horas.
	Inflamación crónica	87	Mas de 48 horas	Lesión con tiempo de antigüedad mayor a 48 horas.
	Angiogénesis	22	Tres días o más	Lesión con tiempo de antigüedad mayor a tres días y menor de 15.
Tricromico de Masson	Positivo	86		Presencia de colágeno, componente de cicatriz.
Colágeno IV	Marcada Reacción	40	4 días o más	Tiempo de antigüedad mayor de 4 días.
Queratina CK5	Detección temprana	15	13 días	Tiempo de antigüedad mayor a 13 días.
Antígeno de Membrana Epitelial	Negativo	92		Piel normal, sin cicatriz.
Fuente Inacif 2019				

### Discusión

En cinco años en el Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala se realizaron un promedio de 30,000 necropsias, al 3% de los casos se les realizó estudio histopatológico, un porcentaje bajo comparado con otros países; en un estudio realizado en Costa Rica en el año 2015, de la totalidad de muertes naturales en adultos se les realizó estudio histopatológico a un 67.3 %. El estudio histopatológico es una herramienta que permite confirmar o refutar los hallazgos macroscópicos, es de utilidad en los casos en los cuales no se tiene un mecanismo de muerte claro. En el estudio mencionado se revisaron protocolos de autopsia clasificados como muerte natural y se les realizó estudio histopatológico, lo que permitió confirmar o descartar el diagnóstico previamente anotado como responsable de la muerte, obteniendo que solo el 42,62% coincide completamente tanto macroscópicamente como microscópicamente. Por lo que es recomendable realizar a todas las muertes naturales o violentas análisis histopatológico, mientras los recursos humanos y materiales lo permitan. (Vargas & Rodríguez, 2015)

En Guatemala los altos índices de violencia se ven reflejados en la cantidad de muertes por violencia. Un documento elaborado y publicado con datos de la Policía Nacional

Civil de Guatemala (PNC), oficializados por el Instituto Nacional de Estadística (INE) para los años 2010-2018, refleja que casi la mitad de las víctimas de muertes violentas en 2019 fueron jóvenes entre 18 y 30 años. La tasa de muertes violentas de este rango de edad es de 41.2, un poco menos del doble de la tasa nacional. En 2019, aproximadamente, 85 de cada 100 víctimas de muertes violentas fueron hombres. Las muertes violentas de hombres disminuyeron un 8.7 % respecto a 2018. Las muertes violentas de mujeres representan el 15.4% del total de víctimas mortales del 2019, y disminuyeron solamente 3.2% con respecto al 2018. La proporción de mujeres víctimas con respecto al total ha ido en aumento desde 2012 que marcaba el 11.1 % hasta el 15.4% de 2019. (“Violencia y seguridad ciudadana, Guatemala 2019,” 2020)

En la práctica forense, es necesario evaluar la relación causal entre la muerte y cualquier herida, y los patólogos forenses siempre deben discriminar las heridas antemortem de los daños postmortem. Además, cuando la herida es vital, es necesario determinar cuánto tiempo antes de la muerte se produjo. La descripción breve y simplificada de la cicatrización de heridas se puede adoptar para determinar la vitalidad o la edad de las heridas en medicina forense. (Kondo & Ishida, 2010)

Se utilizan varios métodos para determinar la edad de la herida. El análisis morfológico tiene una larga historia de ser el método más utilizado debido a su naturaleza visual o intuicionista, objetividad y capacidad para evaluar la localización de marcadores. La observación visual (cambios de color) de los hematomas ha sido durante mucho tiempo una herramienta de investigación para determinar la edad de un hematoma. Proporciona mucha información útil sobre el envejecimiento de las heridas y sigue siendo irremplazable. Se han realizado intentos para determinar la edad de los hematomas basándose en su coloración vista mediante inspección visual, pero se ha demostrado que este método es demasiado variable para ser de uso práctico porque el tiempo de aparición y el color de un hematoma se ven afectados por la profundidad, ubicación y complejidad de la piel, entre otros factores. Por tanto, el problema debe abordarse mediante investigaciones científicas experimentales. Por tanto, se ha explorado el uso potencial de numerosos marcadores temporales en patología forense. Aunque la evaluación histológica convencional (p. ej., con hematoxilina-eosina y tinción con azul de Berlín) puede detectar cambios 6 h después de una lesión, su aplicación

práctica es limitada. Los estudios de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, que son útiles para estimar la edad de las heridas en etapas tempranas, permiten (1) la localización de factores tisulares indicativos de la etapa de respuesta y (2) la determinación de las fases de activación de células individuales. Estos datos permiten evaluar la vinculación de la morfología con la función y acercarse al intervalo de edad de la herida determinado por ensayos de citoquinas y moléculas de adhesión. Una técnica de tinción múltiple por inmunofluorescencia permite la detección de tres o cuatro marcadores simultáneamente y facilita los análisis cualitativos y cuantitativos del tejido. Como se informa que los porcentajes de neutrófilos polimorfonucleares, células mononucleares y células fibroblásticas en las zonas lesionadas cambian con el tiempo, pueden tener una utilidad potencial para estimar la edad de la herida. Algunos estudios han informado de una correlación positiva entre una etapa temprana de la herida y los niveles de los marcadores, incluso en 1998, cuando Dressler et al, observaron reacciones inmunohistoquímicas fuertemente positivas para la selectina P 3 minutos después de la creación de la herida. (Li et al., 2020)

Los hallazgos anteriores serán útiles en estudios futuros. En particular, la distancia que migran las células inflamatorias desde el vaso libre, que no se ha estudiado debido a las limitaciones de las técnicas de medición, está teóricamente relacionada con una etapa temprana de la lesión. Según se informa, los resultados de los ensayos inmunohistoquímicos cuantitativos no son precisos ni estables y pueden verse influenciados por las habilidades del operador, como la definición subjetiva de estándares positivos. Estos problemas restringen la aplicación clínica de la inmunohistoquímica. Los sistemas de escaneo de cortes digitales eliminan automáticamente los factores subjetivos al identificar y examinar diferentes áreas de una muestra y facilitan las investigaciones de la distancia entre las células inflamatorias y el vaso libre. La combinación de un sistema de escaneo de cortes digital y técnicas de tinción múltiple de inmunofluorescencia permite realizar pruebas automatizadas de tres o cuatro marcadores simultáneamente y, por lo tanto, debe investigarse más a fondo. (Li et al., 2020)

La tinción histológica de rutina (H & E) forma la base de la determinación de la edad de las heridas de la piel humana, la detección de granulocitos neutrófilos aproximadamente 20-30 minutos después de la herida, permite establecer la vitalidad de una lesión, la

infiltración intensiva de granulocitos en el área de la herida, así como un aumento relevante en los macrófagos, solo se pueden esperar varias horas después de la lesión, los macrófagos con fagocitosis diferenciada, muestran un tiempo de supervivencia de al menos 2-3 días, la presencia de infiltrados de linfocitos con grupos en el tejido de granulación indican un tiempo de supervivencia de al menos 1 semana. (Betz, 1994)

En esta investigación, se procedió a evaluar con tinción de hematoxilina-eosina 92 casos relacionados a piel y mucosas, para verificar si el tejido estaba bien conservado y era apto para tinciones especiales, se excluyeron 6 muestras con autólisis severa. La tinción de H & E permitió evidenciar la presencia de proceso inflamatorio y cicatrizal, predominando la inflamación crónica en el 95% de los casos, angiogénesis se presentó en el 24% de casos. El 93 % de las muestras tenían reacción vital, es decir las lesiones fueron realizadas cuando la víctima estaba viva, el 7% ocurrieron cuando la víctima ya había fallecido. Entre otros hallazgos en el 11% de los casos se encontraron quemaduras y en el 7% de los casos infecciones asociadas HPV y Candidiasis.

La mayoría de las muestras procedían del área metropolitana, un pequeño porcentaje de los departamentos, 71% de muestras pertenencia a menores de edad de entre los 2 y 16 años y el 84% de muestras pertenecían a mujeres. De las muestras relacionadas a piel o mucosas, un 30% fueron identificadas como anogenital, algunas muestras incluían mucosa rectal, otro porcentaje de muestras provenían exclusivamente de región genital, se identificaron muestras de otras regiones como cuello y cavidad oral.

Walcher y Orsos discutieron por primera vez, basándose en sus experiencias prácticas sin evidencia científica, que la determinación de la vitalidad o la edad de la herida era indispensable en la práctica forense. Las alteraciones histopatológicas cronológicas que caracterizan las diferentes fases de la cicatrización de heridas se pueden aplicar para determinar la edad de las heridas. Tras una lesión, los neutrófilos se reclutan en el lugar de la lesión, seguidos de los macrófagos de acuerdo con el intervalo posterior a la lesión. En los años 60, Raekallio, científico forense, intentó resolver el problema, investigó la actividad de varias enzimas en el sitio de una herida mediante histoquímica enzimática. Algunos años más tarde, Berg y colaboradores evaluaron los niveles de serotonina e histamina en los bordes de la herida, lo que dio evidencia de fenómenos vitales. Posteriormente, con el avance de la

inmunohistoquímica, la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas abrió un nuevo campo de investigación de la edad de las heridas por parte de los patólogos forenses, comenzando con Eisenmenger et al. y Oehmichen. Durante los últimos 10 años, la determinación de la edad de las heridas ha sido uno de los temas más populares en la investigación forense. Se han investigado intensamente los factores de crecimiento, las citocinas, las matrices extracelulares, etc., lo que ha dado lugar a avances significativos en la determinación de la vitalidad o la edad de las heridas. (Kondo, 2007)

La función principal de la piel es servir como barrera protectora contra el medio ambiente. La pérdida de la integridad de grandes porciones de la piel como resultado de una lesión puede provocar una discapacidad importante o incluso la muerte. La curación de las heridas cutáneas comienza inmediatamente después de la lesión y consta de tres fases: inflamación, proliferación y maduración. Estudios celulares y de biología molecular demostraron que muchas citoquinas, factores de crecimiento y proteasas están estrechamente involucrados en el proceso de curación de heridas para completar la reparación normal del tejido después de un daño.

En esta investigación la evaluación histológica de los tejidos con tinción de H & E, demostró la presencia de componentes relacionados a cicatrización y permitió la valoración de las lesiones inflamatorias, la presencia de elementos del proceso inflamatorio crónico indican que la lesión tiene un tiempo superior a 48 horas, la presencia de angiogénesis (nuevos vasos) sitúa la antigüedad de la lesión entre el día 3-15 (Cabrerizo et al., 2015; (Casse et al., 2016; Dabbs, 2019) Para establecer la cronología de una lesión se deben establecer los cambios histológicos propios de la inflamación, el tejido debe estar bien conservado, si un tejido no permite una observación clara de sus estructuras y sus componentes celulares, pueden elaborarse conclusiones erróneas (Cabrerizo et al., 2015), además las áreas de hemorragia dificultan la interpretación y pueden generar falsos positivos. Algunas investigaciones han demostrado, en lesiones que se habían producido al menos 8 horas antes de la muerte, la presencia de polimorfonucleares perivasculares. En grupos comprendidos entre las 24 a 48 horas, difieren en el grado de intensidad de la respuesta inflamatoria, que se hace más intensa en relación con el mayor tiempo de evolución. Con respecto a la formación

de tejido de granulación, este se encontró en lesiones con más de 3 días de evolución (Jiménez, 2014)

La presencia o ausencia de marcadores de inmunohistoquímica se evaluaron de acuerdo con el tiempo de supervivencia y los parámetros publicados de Gellner y Kondo: el marcador de inmunohistoquímica Colágeno IV sitúa una lesión entre el día 4 hasta varios meses, el marcador CK5 sitúa una lesión entre el día 13 al 23, el marcador de (EMA) es negativo en presencia de tejido cicatrizal y positivo en anexos cutáneos. (Kondo, 2007; Grellner & Madea, 2007; Cabrerizo et al., 2015; Biocare Medical, 2019)

Uno de los factores críticos en los resultados de las técnicas de Inmunohistoquímica es la calidad de la fijación del tejido, que incluye la ausencia de fenómenos de autólisis y putrefacción, la influencia de estos fenómenos en los resultados varía según el marcador analizado, entre otros factores, prácticamente en todos los casos en los que se indujo el artefacto desapareció la inmunorreactividad para fibronectina, estos resultados son similares a los de Betz y cols., que también refieren una disminución de la tinción de fibronectina en la piel que sufrió putrefacción. (Betz et al., 1993)

La Inmunohistoquímica se puede realizar producto de biopsia y de autopsia, así como en material de citología. en tejidos fijados en formol o incluidos en parafina. La adecuada fijación del material para Inmunohistoquímica es esencial. Una fijación inadecuada impide cualquier resultado fiable. El fijador que se utilizará para Inmunohistoquímica es el formaldehído al 4% tamponado a pH 7,4 (formalina). El período ideal de fijación no será menor de 24 horas ni mayor de 48 horas. El material de autopsia ofrece generalmente malos resultados debido a los fenómenos postmortem que sufren los tejidos. La Inmunohistoquímica con marcador vimentina permite observar el deterioro sufrido durante la fijación. (Vaquero, 2007)

Los resultados obtenidos se correlaciona con otros estudios, en un estudio experimental, elevaciones estadísticamente significativas de E-selectina, P-selectina, Fibronectina y factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ 1) encontradas en células inflamatorias y fibroblastos e interleucina 1-alfa (IL1- $\alpha$ ) en fibroblastos cuando todos los demás marcadores son normales implica que la herida se infligió en las últimas 3 horas como máximo; niveles normales de colágeno I, III y factor de crecimiento endotelial vascular

(VEGF) en células inflamatorias y fibroblastos en presencia de elevaciones estadísticamente significativas en todos los demás marcadores indica una edad de la herida de 3 a 12 horas. Se detectó fibronectina, IL-1 $\alpha$  y TGF- $\beta$ 1 en células inflamatorias y aumento de E-selectina, fibronectina e IL-1 $\alpha$  en fibroblastos mientras que todos los marcadores son normales indicarían una edad de la herida de 12 a 24 horas y una E-selectina estadísticamente elevada. La fibronectina, IL-1 $\alpha$  en células inflamatorias y fibroblastos cuando todos los demás marcadores son normales indicaría una edad de la herida de al menos 24 horas. (Kara, et al., 2016)

Un estudio inmunohistoquímico de la expresión de ciclooxigenasa (COX-2) está relacionado con la presencia de infiltrado inflamatorio linfocítico o histiocitario, por lo que sería más característico de lesiones de tiempo largo de evolución. Los efectos de la autólisis y la putrefacción en los resultados varían según el marcador, se ha observado pérdida de inmunoreactividad para fibronectina, la fragmentación del tejido y la tinción de fondo hacen prácticamente imposible la valoración microscópica. (Ortiz, 2009)

Algunos otros marcadores son prometedores, como TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TGF $\alpha$  o TGF $\beta$ 1, pero antes de utilizarlos en la práctica diaria, es necesario confirmar estos primeros resultados con otros estudios, impulsados por equipos independientes e integrando múltiples controles. En particular, los anticuerpos deben probarse en numerosas heridas postmortem. De hecho, existe un riesgo crítico de sobreexpresión en las heridas post mortem, y algunos marcadores interesantes se han invalidado secundariamente debido a la falsa positividad post mortem (p. ej., fibronectina, P-selectina). Finalmente, los valores óptimos de sensibilidad y especificidad probablemente se alcanzarían combinando varios marcadores, validados con grandes grupos de heridas pre y post mortem. (Gauchotte et al., 2013)

En esta investigación de muestras de piel y mucosas relacionadas a lesiones, el colágeno IV positivo o con marcada reacción indicó que la antigüedad de la lesión puede establecerse entre cuatro días hasta varios meses, la tinción de CK5 se haría positiva entre el día 13 y 23, EMA fue negativa; por consiguiente las lesiones observadas tenían diferente tiempo de antigüedad, si presentan angiogénesis la antigüedad es superior a tres días, el colágeno determina una antigüedad superior a 4 días hasta varios meses y si CK5 tenía una marcada reacción la lesión se encuentra entre el día 13 y 23, cuando la epitelización está

completa. (Anexo 9) Las muestras histopatológicas permitieron evidenciar el proceso inflamatorio agudo o crónico y cicatrizal, la tinción de Tricrómico confirmó la presencia de elementos característicos de los procesos cicatrizales. En algunos casos se encontró autólisis, por lo que algunas muestras no fueron consideradas aptas para el estudio. La Inmunohistoquímica, que parece ser el método más valioso dado su facilidad de realización y la posibilidad de analizar la localización de las moléculas de interés. En cada caso con marcada positividad o reacción a las tinciones y donde se estableció la antigüedad de las lesiones, se elaboró un informe adicional y se creó un archivo de fotografías digitales, que pueden ser consultado y revisado. Al incorporar el informe adicional que detalla coloraciones o marcadores específicos, que son positivos o negativos en un periodo de tiempo determinado, es posible asignar un tiempo de antigüedad a la lesión observada, en un informe histopatológico complementario (anexo 7), además puede vincularse con los hechos que rodean la muerte. Si bien no se puede ser tajante en los intervalos de tiempo a la hora de establecer la antigüedad una lesión, casi siempre será posible determinar el tipo de lesión y en qué estadio reparativo se encuentra, esto es fundamental para el análisis y el dictamen del forense. (Cabrerizo et al., 2015) Los resultados obtenidos en esta investigación también indican que el estudio histopatológico debe siempre acompañar el análisis forense, el cual no debe basarse únicamente en el estudio macroscópico, si es posible deberá también realizarse la/las tinciones que sean necesarias para evidenciar los componentes celulares sin posibilidad de duda o error, esto conduce a un mejor manejo de los casos médico legales y por ende a que los dictámenes tengan un valor probatorio.

Los hallazgos deben evaluarse basándose en los datos post mortem establecidos mediante investigaciones seriadas de los materiales de la autopsia utilizando procedimientos estandarizados de fácil acceso. Con respecto a esto, los procedimientos bioquímicos tienen ventajas de estandarización, garantía de calidad, análisis cuantitativos, evaluación estadística y disponibilidad de múltiples marcadores, a pesar de varios problemas involucrados en la selección y recolección de materiales y la aplicabilidad de los procedimientos analíticos. El objetivo principal del uso de la bioquímica postmortem y la biología molecular es investigar los cambios fisiopatológicos sistémicos involucrados en el proceso de muerte que generalmente no pueden detectarse mediante métodos morfológicos; éstas pueden denominarse "reacciones vitales fisiopatológicas". Estos procedimientos pueden

proporcionar un apoyo útil a la evidencia patológica mediante la "visualización" de alteraciones funcionales, y también son esenciales para la evaluación patognomónica tanto de la causa como del proceso de la muerte como parte de las investigaciones de laboratorio de rutina involucradas en la "autopsia completa". (Maeda et al., 2011)

Es posible establecer por métodos histológicos convencionales y especiales el tiempo de antigüedad de una lesión, los tejidos que fueron parte del estudio estaban preservados en formol o parafina, si se protocoliza realizar estudio histopatológico a todos los casos donde se debe determinar la temporalidad de las lesiones, el tejido fresco o reciente poder ofrecer mucha y más valiosa información.

### **Conclusiones**

1. Durante los años 2014 a 2018, en el Laboratorio de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala se realizaron 909 estudios histopatológicos, el 11 % de las muestras estaban relacionadas a lesiones en piel y tejidos blandos, de ellas el 94% de las muestras fueron aptas para estudio histopatológico y tinciones de histoquímica e inmunohistoquímica.
2. Utilizando la tinción convencional de Hematoxilina-Eosina se determinó que el 93% de las muestras tenían reacción vital, un 95% de las muestras presentaba hallazgos relacionados a inflamación crónica, la mitad con angiogénesis (formación de nuevos vasos); entre otros hallazgos se encontraron infecciones y quemaduras.
3. En el 93% de las muestras estudiadas fueron positivas a la tinción de Tricrómico de Masson, esta tinción identifica constituyentes del tejido cicatrizal, específicamente colágeno, elemento que participa en la remodelación de la matriz extracelular y maduración de la cicatriz.
4. La tinción de inmunohistoquímica para Colágeno IV (que forma el andamiaje de las membranas basales sobre las que se asientan las células de los epitelios), fue positivo o con marcada reacción en un 43 % de las muestras; la tinción de queratina CK5 (marcador que se expresa en las capas basal, intermedia y superficial de los epitelios estratificados, cuya detección más temprana es al día 13 y con marcada reacción a partir día 23, cuando ocurre la tercera fase de epitelización con diferenciación de la epidermis formada, fue positiva en un 16% de las muestras, el antígeno de membrana

epitelial EMA fue negativo en todas las muestras, este se haría evidente en anexos cutáneos, en dermis normal o en aquella en la cual no hay lesión de estratos profundos de la piel.

5. Las muestras relacionadas a lesiones, que presentaban inflamación crónica, se les atribuye una antigüedad de al menos 48 horas, cuando se agrega angiogénesis la lesión tiene un tiempo de evolución mayor de 3 días; Colágeno IV positivo o con marcada reacción establece que la antigüedad de la lesión es superior a 4 días; cuando los casos fueron positivos para CK5 se consideró que la antigüedad de la lesión era superior a 13 días, al momento que había ocurrido la muerte.

### **Recomendaciones**

1. Dada la poca demanda de los estudios histopatológicos en relación total de necropsias realizadas en el Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, es recomendable implementar en los protocolos de manejo los criterios para solicitar estudio histopatológico, capacitar a los médicos forenses para realizar a todas las muertes naturales o violentas análisis histopatológico, mientras los recursos humanos y materiales lo permitan, El estudio histopatológico permite confirmar los hallazgos encontrados por el médico forense y establece una adecuada correlación incluso en los casos de muerte por cualquier otra causa no relacionada a violencia.

2. Debe realizarse análisis histopatológico convencional a todos los casos en los cuales se determine la presencia de lesiones y utilizar tinciones especiales, lo que permitirá establecer la vitalidad y la antigüedad de las lesiones, esto será particularmente útil en la investigación de muertes violentas.

3. Se elaboro y se recomienda utilizar un "Protocolo de manejo y envío de las muestras", para mejorar el traslado y manipulación de las mismas, lo cual es necesario dado el desconocimiento o poca demanda de este recurso por parte de los forenses en los departamentos del interior del país.

### Referencias Bibliográficas

- Bennett, N. T., & Schultz, G. S. (1993). Growth factors and wound healing: Biochemical properties of growth factors and their receptors. *The American Journal of Surgery*, *165*(6), 728–737. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(05\)80797-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(05)80797-4)
- Betz, P., Nerlich, A., Wilske, J., Tübel, J., Penning, R., & Eisenmenger, W. (1993). The immunohistochemical analysis of fibronectin, collagen type III, laminin, and cytokeratin 5 in putrified skin. *Forensic Science International*, *61*(1), 35–42. [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(93\)90247-8](https://doi.org/10.1016/0379-0738(93)90247-8)
- Betz, P. (1994). Histological and enzyme histochemical parameters for the age estimation of human skin wounds. *International Journal of Legal Medicine*, *107*(2), 60–68. <https://doi.org/10.1007/BF01225491>
- Biocare Medical. (2019). Starr trek universal HRP detection system. *Biocare Medical*. <https://biocare.net/product/starr-trek-universal-hrp-detection-system/>
- Cabrerizo, E., Villanueva de la Torre, H., & Salguero Villadiego, M. (2015). Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones. *Cuadernos de Medicina Forense*, *21*(3–4), 127–134. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1135-76062015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1135-76062015000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Casse, J.-M., Martrille, L., Vignaud, J.-M., & Gauchotte, G. (2016). Skin wounds vitality markers in forensic pathology: An updated review. *Medicine, Science and the Law*, *56*(2), 128–137. <https://doi.org/10.1177/0025802415590175>
- Dabbs, D., Cartum, R., & Taylor, C. (2019). Técnicas de Inmunohistoquímica: principios, dificultades y estandarización. En *Diagnostico inmunohistoquímico* (5a ed., p. 46). Amolca.
- Fuertes, L., Santonja, C., Kutzner, H., & Requena, L. (2013). Inmunohistoquímica en dermatopatología: revisión de los anticuerpos utilizados con mayor frecuencia (parte i). *Actas Dermo-Sifiliográficas*, *104*(2), 99–127. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2012.02.015>

- Gartner, L., & Hiatt, J. (2008). *Texto atlas de histología* (3.a ed.). McGraw-Hill Interamericana.
- Gauchotte, G., Martrille, L., Plénat, F., & Vignaud, J.-M. (2013). [The markers of wound vitality in forensic pathology]. *Annales De Pathologie*, 33(2), 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.annpat.2013.02.006>
- Grellner, W., Dimmeler, S., & Madea, B. (1998). Immunohistochemical detection of fibronectin in postmortem incised wounds of porcine skin. *Forensic Science International*, 97(2), 109–116. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(98\)00147-9](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(98)00147-9)
- Grellner, W., & Madea, B. (2007). Demands on scientific studies: Vitality of wounds and wound age estimation. *Forensic Science International*, 165(2–3), 150–154. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.029>
- Hernández, C. (2005). Diagnostico diferencial entre lesiones vitales y postmortales. In *Medicina Legal y Toxicología* (6a ed., pp. 351–359). MASSON.
- Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala. (2020). *Servicios acreditados*. <https://www.inacif.gob.gt/index.php/servicios/servicios-acreditados>
- Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala. (2019). *Portal Estadísticas*. <https://www.inacif.gob.gt/estadisticasweb/necropsias.php>
- Jiménez, D. (2014). Estimación del tiempo de evolución de las excoriaciones, basado en el análisis histológico. *Medicina Legal de Costa Rica*, 31(2), 34–41. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1409-00152014000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1409-00152014000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Kara, S., Akbaba, M., Bakir, K., & Kul, S. (2016). *Is it possible to make early wound age estimation by immunohistochemical methods?*, 24(2), 92-99(2016). <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/473>
- Kondo, T. (2007). Timing of skin wounds. *Legal Medicine*, 9(2), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2006.11.009>
- Kondo, T., & Ishida, Y. (2010). Molecular pathology of wound healing. *Forensic Science International*, 203(1–3), 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.07.004>
- Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C., & Turner, J. (2021). Inflamación y reparación. En *Patología estructural y funcional* (10a ed., pp. 71–113). Elsevier.

- León Regal, M., Alvarado Borges, A., de Armas García, J., Miranda Alvarado, L., Varens Cedeño, J., & Cuesta del Sol, J. (2015). Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares: cifras alarmantes. *Revista Finlay*, 5(1), 47–62. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2221-24342015000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2221-24342015000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Ley Orgánica del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, Decreto 32-2006. *Diario de Centro América*, t. 380 No. 15, 3-6 (2006, 22 de mayo) <https://www.congreso.gob.gt/>
- Li, N., Du, Q., Bai, R., & Sun, J. (2020). Vitality and wound-age estimation in forensic pathology: review and future prospects. *Forensic Sciences Research*, 5(1), 15–24. <https://doi.org/10.1080/20961790.2018.1445441>
- Lucena, S., Arocha Piñango, C. L., & Guerrero, B. (2007). Fibronectina: Estructura y funciones asociadas a la hemostasia. Revisión. *Investigación Clínica*, 48(2), 249–262. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0535-51332007000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0535-51332007000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Maeda, H., Zhu, B., Ishikawa, T., & Michiue, T. (2010). Forensic molecular pathology of violent deaths. *Forensic Science International*, 203(1–3), 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.07.024>
- Maeda, H., Ishikawa, T., & Michiue, T. (2011). Forensic biochemistry for functional investigation of death: Concept and practical application. *Legal Medicine*, 13(2), 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2010.12.005>
- Megias, M., Molist, P., & Pombal, M. (2023). *Técnicas. Ampliaciones. Desenmascaramiento de antígenos. Atlas de Histología Vegetal y Animal*. <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/ampliaciones/desenmascaramiento.php>
- Obac, Ar., Carvalho, Eg., Silva, Pcs., Fenerich-Verani, N., & Almeida, M. (2011). Histological analysis of short-term vital reactions in skin wounds: potential applications in forensic work. *Brazilian Journal of Biology*, 71(4), 1011–1014. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000500021>
- Organización Panamericana de la Salud y Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médica. *Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos* (4 ed.). CIOMS.

- Ortiz, R. (2009). *Aplicación de la inmunohistoquímica al diagnóstico de vitalidad en las heridas cutáneas incisas* [Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=113366>
- Romero, A. (2016). Cicatrización. *Revista Médica Sinergia*, 1(9), 13–17. <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/45>
- Sánchez, J. A. (2014). Lesiones, diferenciación entre lesiones vitales y post mortales. En *Medicina Legal y Forense* (p. 246). TirantLoBlanch-Valletta.
- Senet, P. (2008). Fisiología de la cicatrización cutánea. *EMC - Dermatología*, 42(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S1761-2896\(08\)70356-X](https://doi.org/10.1016/S1761-2896(08)70356-X)
- van de Goot, F. R. W., Korkmaz, H. I., Fronczek, J., Witte, B. I., Visser, R., Ulrich, M. M. W., Begieneman, M. P. V., Rozendaal, L., Krijnen, P. A. J., & Niessen, H. W. M. (2014). A new method to determine wound age in early vital skin injuries: a probability scoring system using expression levels of Fibronectin, CD62p and Factor VIII in wound hemorrhage. *Forensic Science International*, 244, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.08.015>
- Vaquero, M. (2007). *Manual de calidad de inmunohistoquímica en anatomía patológica*. Hospital Donostia. <https://xdoc.mx/documents/manual-de-calidad-de-inmunohistoquimica-5f1b43b43ce4b>
- Vargas, E. (2017). *Traumatología forense* (2da ed.). Trillas.
- Vargas Sanabria, M., & Rodríguez Mena, K. D. (2015). Importancia del estudio histopatológico en la determinación de las causas de defunción de autopsias medicolegales cuya manera de muerte se clasificó como natural. *Medicina legal de Costa Rica*, 32(1), 5–23. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9532550>
- Villalba, L., & Bilevich, E. (2008). Consenso sobre cicatrización de heridas. *Dermatología Argentina*, 14(4), 1–41. <https://www.dermatolarg.org.ar/index.php/dermatolarg/article/view/240>
- Violencia y seguridad ciudadana, Guatemala 2019 - Infosegura*. (2020, Marzo 18). Infosegura. <https://infosegura.org/2020/03/18/violencia-y-seguridad-ciudadana-guatemala-2019/>

## Apéndice

### Apéndice A. Dictamen bioético

 <b>USAC</b> TRICENTENARIA <small>Universidad de San Carlos de Guatemala</small>	UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS COMITÉ DE BIOÉTICA EN INVESTIGACIÓN EN SALUD	 Comité de <b>Bioética</b> <small>en Investigación en Salud</small>
---	---	--

#### DICTAMEN BIOÉTICO

Código: 00-07

Fecha de ingreso: 24 de abril 2019.

Fecha de dictamen: 8 de mayo de 2019

Número de evaluación: segunda rev.

1. **Título del proyecto:** Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones en piel, mucosas y tejidos blandos mediante de histoquímica e inmunohistoquímica. (diferenciación de los constituyentes de tejido inflamatorio y cicatrizal, en piel y tejidos blandos, utilizando histoquímica e inmunohistoquímica, en muestras de estudios histopatológicos de los años 2014 a 2018, provenientes de cadáveres, a realizarse en el laboratorio de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala)

2. **Nombre del investigador (es):** Dra. Lilian Isabel Cayax Menchú.

3. **Tutor (s) responsable (s):** Dra. Elisa Hernández de Rodas asesora.

4. **Autorización institucional:** (Lugar donde se realizará la investigación)

Si  No  Incompleto

5. **Autorización metodológica:** (Para estudiantes de grado se refiere a la autorización del tutor; en los años de la carrera donde existe el comité de revisión metodológica, debe presentarse el aval del mismo; tesis debe llevar el aval de la Coordinación de Trabajos de Graduación; estudiantes de postgrado, aval del asesor y revisor).

6. **Aval de bioseguridad (Si aplica):**

Si  No  NA

7. **DICTAMEN:**

Aprobado:  Sugerencias de modificaciones: \_\_\_\_\_

No aprobado: \_\_\_\_\_

8. **OPINIÓN Y RECOMENDACIONES:**

**Bioéticas:**

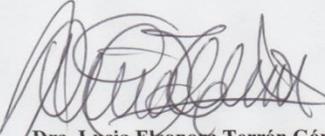
**Nota:** El trabajo está aprobado. Por la importancia y el valor social que tiene la realización del estudio, este comité solicita tanto a la persona encargada de la revisión como a la del asesoramiento, oriente y proporcione el acompañamiento necesario, así como la vigilancia del buen desempeño y realización de la investigación.

Con base a lo anterior el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala está en toda la facultad de solicitar en cualquier momento información del desarrollo del proceso investigativo.

9. Firma(s)

  
Lic. Marco Antonio García Enriquez  
Administrador



  
Dra. Lucía Eleonora Terrón Gómez.  
Coordinadora

## Apéndice B. Autorización Inacif



Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala  
Investigación y Desarrollo Científicas

Oficio-DI-IDC-17-2018

Guatemala, 17 de septiembre del 2018

**Doctora**  
**Lilian Isabel Cayax Menchú**  
**Médico y Cirujano**  
**Presente**

Estimada Doctora:

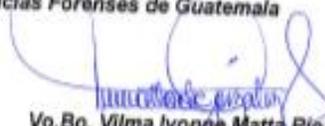
De manera atenta me dirijo a usted, con relación a solicitud para realizar el trabajo de investigación "**Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones en piel y mucosas mediante técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica**".

En tal sentido me permito informar que, se le invita que continúe con la gestión para realizar la investigación; por lo cual debe completar los requisitos de la normativa vigente del Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala, los cuales consisten en:

- a) Oficio con el Visto Bueno del Área que respalde la solicitud de Investigación.
- b) Completar el proyecto a realizar, con descripción de cronograma no mayor a 10 meses, herramienta de recolección de datos y el plan de análisis de resultados. (entregarlo en físico y digital).

Sin otro particular me suscribo de usted,

  
**Doctora Zahira Vanessa Guzmán Castañón**  
**Jefe de Investigación y Desarrollo Científico**  
**Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala**  
**INACIF**

  
**Vo.Bo. Vilma Ivonne Mata Ríos**  
**Jefe Desarrollo Institucional**  
**Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala**  
**INACIF**



C.C. Archivo



## Apéndice C. Procedimiento para investigaciones Inacif

COPIA NO CONTROLADA

	Procedimiento	Código: PRO-DG-IDC-001
	<b>REALIZACIÓN DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS EN EL INACIF</b>	Versión: 01
		Vigente a partir de: 03/07/2018
		Página 1 de 7

### 1. OBJETIVO

Promover, regular, autorizar y estandarizar investigaciones científicas de calidad y de forma pertinente, que sean de utilidad para el INACIF y al entorno científico forense.

### 2. ALCANCE

Describir el procedimiento desde la recepción de la solicitud de autorización para realizar investigaciones científicas, estudios o artículos hasta la aprobación de las mismas. Aplica para las investigaciones científicas, estudios o artículos a solicitud de investigadores externos; así como, investigaciones científicas, artículos y ensayos a solicitud de investigadores internos, realizadas en el INACIF.

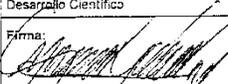
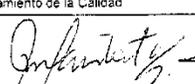
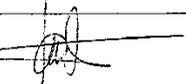
### 3. RESPONSABLES

1.	<b>Jefe de Investigación y Desarrollo Científico</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Aprobar planes de investigación interna y externa.</li> <li>2. Solicitar documentación al investigador.</li> <li>3. Presentar propuestas al Comité de Investigación.</li> <li>4. Comunicar al investigador las resoluciones del Comité de Investigación.</li> <li>5. Monitorear el desarrollo de la investigación.</li> <li>6. Proponer implementación de investigación finalizada a Dirección General.</li> </ol>
2.	<b>Comités Técnicos de Investigación</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Revisar el desarrollo de los proyectos de investigación científica, estudios o artículos en el INACIF y emitir resolución del informe final.</li> </ol>
3.	<b>Jefe de dependencia del INACIF que apruebe la investigación interna</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Autorizar la participación de personal a su cargo para realizar investigaciones internas.</li> </ol>

### 4. GLOSARIO

- 4.1 **Comités técnicos de Investigación:** Son los encargados de revisar el desarrollo de los proyectos de investigación científica, estudios o artículos en el INACIF y emitir resolución del informe final. Los comités son de carácter objetivo y multidisciplinario y estarán conformados según la especialidad por integrantes internos, externos, consultor internacional o miembros forenses designados por Investigación y Desarrollo Científico.
- 4.2 **Datos personales:** los relativos a cualquier información concerniente a personas naturales identificadas o identificables.
- 4.3 **Datos sensibles o datos personales sensibles:** aquellos datos personales que se refieren a las características físicas o morales de las personas o a hechos o circunstancias de su vida privada o actividad, tales como los hábitos personales, de origen racial, el origen étnico, las ideologías y opiniones políticas, las creencias religiosas, los estados de salud físico o psíquicos, preferencia o vida sexual, situación morales y familiar u otras cuestiones íntimas de similar naturaleza.

DELEGADO POR ACUERDO  
No. CD-INACIF-005-2015

Elaborado por: Zaira Vanessa Guzmán Castañón	Revisado por: Jenny Mariela Santisteban Bautista	Aprobado por: MSc. Faúel Macbanal García Morales
Puesto: Jefe de Investigación y Desarrollo Científico	Puesto: Jefe de Gestión y Acreditamiento de la Calidad	Puesto: Director General
Firma: 	Firma: 	Firma: 

COPIA NO CONTROLADA

## Apéndice D. Autorización procesamiento de muestras. Centro de Investigaciones Biomédicas



Ref.CIB.051.2019  
Guatemala 10 de abril de 2019

Dra. Lilian Isabel Cayax Menchu  
Carnet 100030022  
Estudiante  
Doctorado en Ciencia Biomédicas  
Facultad de Ciencias Médicas  
USAC-CUM

Estimada Dra. Cayax:

Deseándole éxitos en sus labores diarias, el motivo de la presente es para informarle que no se tiene ningún inconveniente en apoyarla para el procesamiento de sus muestras de tesis doctoral titulada "Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones de piel, mucosas y tejidos blandos, mediante técnicas de histoquímica e Inmunohistoquímica.

Sin otro particular.

Atentamente

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Dr. Alberto García González, PhD  
Coordinador del Centro de Investigaciones Biomédicas  
Facultad de Ciencias Médicas.  
USAC- CUM.



C.c. Archivo  
IEMC

## Apéndice E. Boleta recolectora de datos

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
 FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS  
 ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
 DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS  
 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LESIONES EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS UTILIZANDO TÉCNICAS DE HISTOQUÍMICA  
 E INMUNOHISTOQUIMICA, EN MUESTRAS PROVENIENTE DE CADÁVERES DEL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS FORENSES DE GUATEMALA.

### BOLETA RECOLECTORA DE DATOS

No. \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Número de HISTO-CEN \_\_\_\_\_ Fecha de toma de muestra: \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_ Procedencia: \_\_\_\_\_

Descripción de Indicios: \_\_\_\_\_

Numero de láminas: \_\_\_\_\_ Numero de bloques de parafina: \_\_\_\_\_

TEJIDO ANALIZADO	SI	NO	OBSERVACIONES/localización anatómica		
- Piel					
- Tejido blando					
- Otro(especifique)					
- Adecuado para estudio					
DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO H&E					
- Inflamación Aguda					
- Inflamación crónica					
- Tejido cicatrizal					
- Otros (infección, quemadura)					
HISTOQUIMICA					
- Tricrómico de Masson positivo					
			TIEMPO ESTIMADO		
INMUNOHISTOQUIMICA			HORAS	DIAS	SEMANAS
-COLAGENO IV POSITIVO					
-CK 5 POSITIVO					
-EMA POSITIVO					
OBSERVACIONES					
RESPONSABLE					

licm/2018

## Apéndice F. Presupuesto



Guatemala 24 de Julio 2,019

Dra. Lilian Cayax

Presente

Deseándole éxitos en sus labores y muchas bendiciones. Por medio de la presente nos complace hacer de su conocimiento el precio de cada anticuerpo que fue utilizado para poder entregarle un trabajo de calidad.

ANTICUERPO	PRECIO
> COLÁGENO IV	Q. 3,026.41
> CK-5	Q. 3,173.75
> EMA	Q. 2,123.25
> STAR TRECK	Q. 9,149.64
<b>TOTAL</b>	<b>Q. 17,473.05</b>

HISTOQUIMICA	PRECIO
H y E	Q. 35.00 c/u
TRICRÓMICO DE MASSON	Q. 50.00 c/u

COLORACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA		
EMA	15 LAMINILLAS	388.29 c/u
CK	15 LAMINILLAS	388.29 c/u
COLÁGENO	15 LAMINILLAS	388.29 c/u

**Apéndice G. Criterios histológicos en imágenes**

FIGURA 1

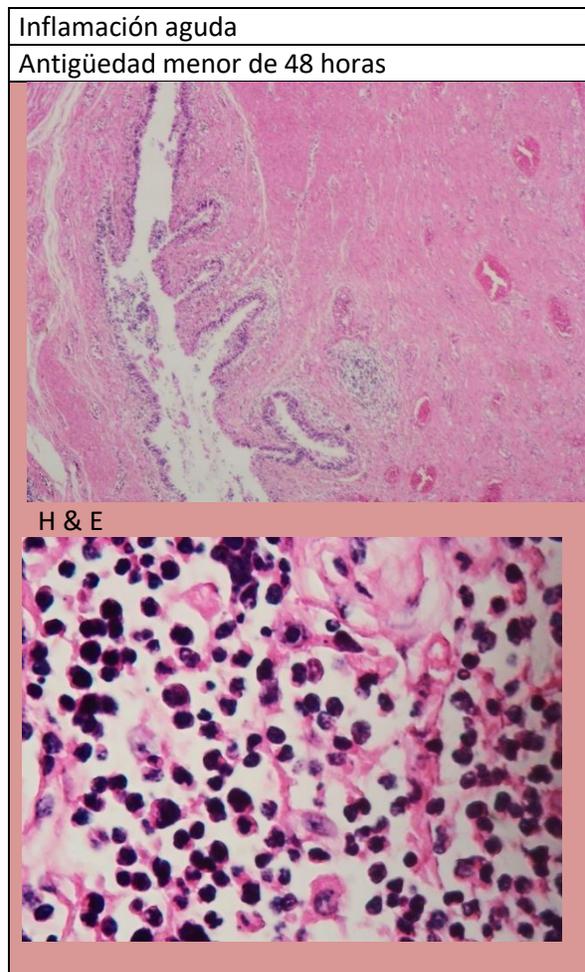


FIGURA 2

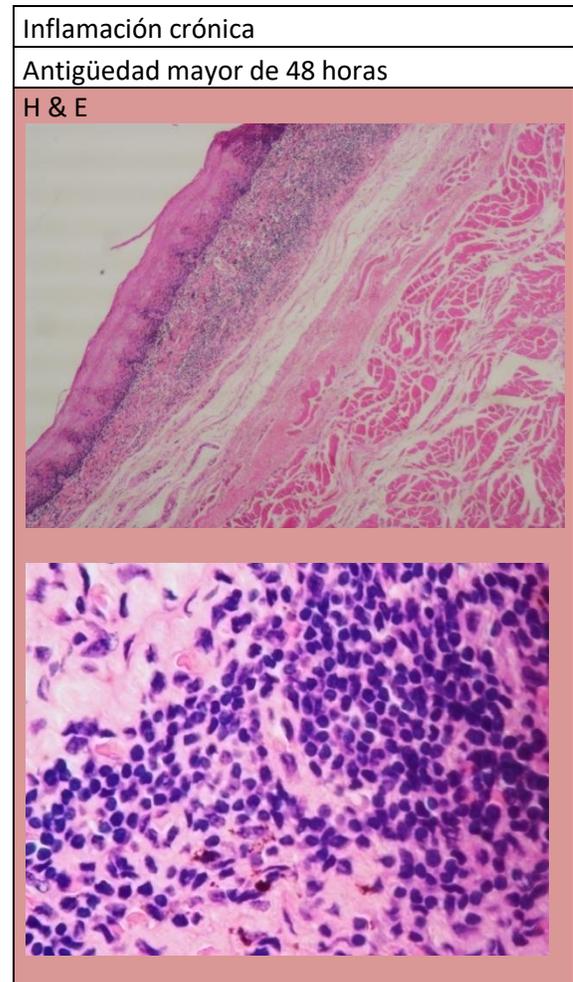


FIGURA 3

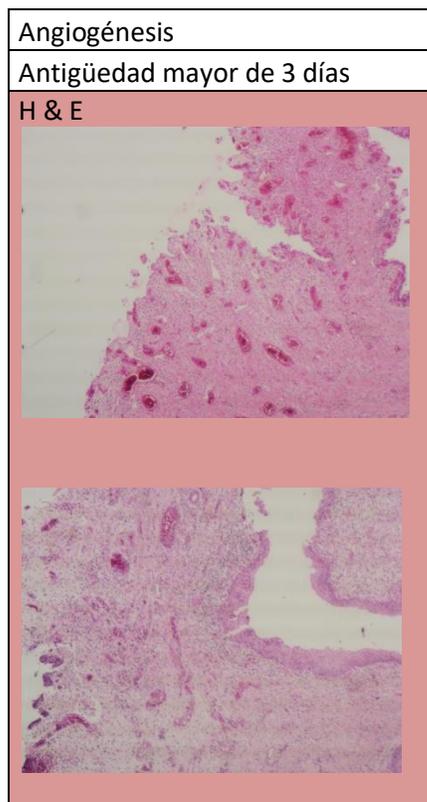


FIGURA 4

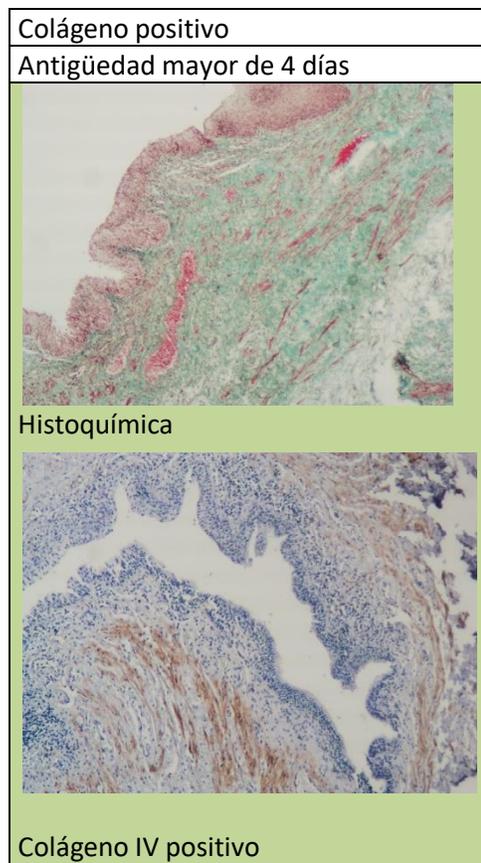
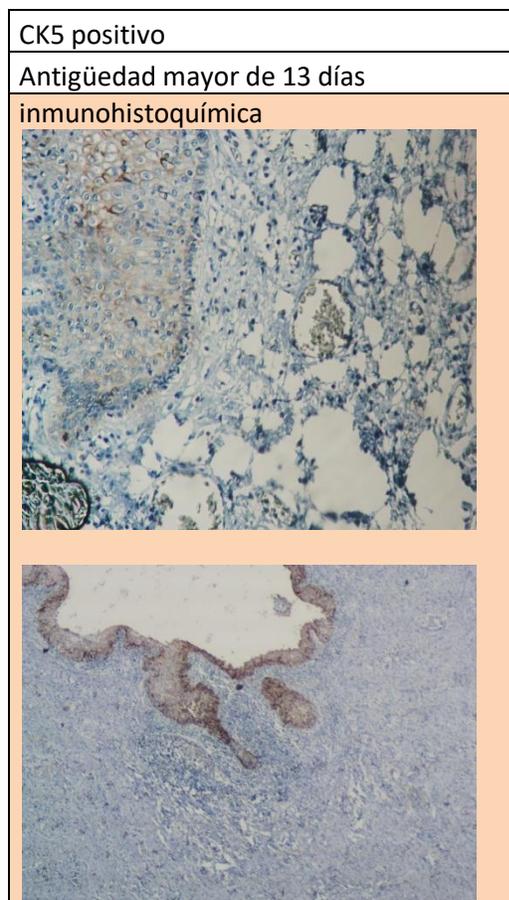


FIGURA 5



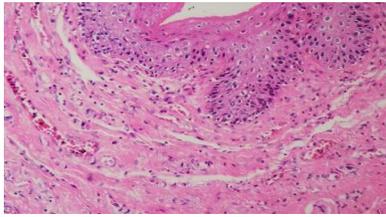
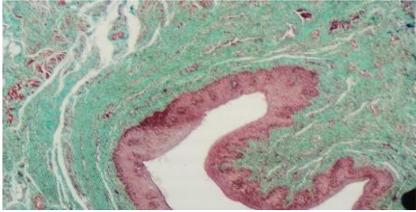
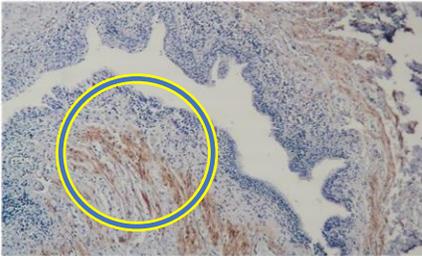
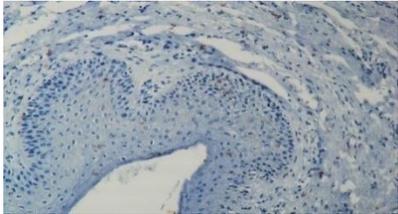
## Apéndice H. Modelo de informe complementario

### MODELO DE INFORME DE HISTOPATOLOGIA:

No. 2014-163

Láminas 1, 2 y 3

Referido como Ano:

<p>Tinción de H&amp;E Infiltrado inflamatorio crónico</p> 	<p>Tinción de Tricrómico de Masson Positivo (presencia de colágeno)</p> 
<p>COLAGENO IV Marcador Positivo Marcada reacción</p> 	<p>EMA Marcador Negativo</p> 

### CONCLUSION:

#### Ano:

Las secciones histológicas de Piel, mucosa y tejidos blandos muestran Inflamación crónica y cambios regenerativos (marcador de colágeno IV positivo), con un tiempo de antigüedad de la lesión que puede situarse entre el día 4 y el día 13.

Dra. Lilian Isabel Cayax Menchu  
Patóloga.

## Apéndice I. Instructivo para el envío y manejo de muestras (propuesta)

### A. Propósito y Objetivo:

Este instructivo de envío y manejo de muestras al laboratorio de Histopatología de INACIF, tiene como propósito brindar una guía sencilla y fácil de seguir para el control de las variables asociadas al proceso preanalítico, como lo son la toma, manejo y transporte de muestras en el análisis patológico. Se evita comprometer la integridad de las muestras cuando el médico, el personal y el laboratorio siguen las políticas y procedimientos apropiados. Además, el cumplimiento de estas directrices garantizará un transporte seguro y oportuno de la muestra y la obtención de un diagnóstico certero y confiable.

### B. Definiciones Básicas

a. Biopsia: Es la toma de una muestra o porción de tejido de un órgano, para investigar a través del microscopio la naturaleza de una lesión.

Tipo	Descripción
Biopsia de Punción	Es la toma de un cilindro de tejido que varía de 1 a 6 mm de diámetro. En el caso de la piel comprende epidermis, dermis y tejido celular subcutáneo.
Biopsia Excision	Es la extirpación total de lesiones pequeñas
Biopsia Incisión	Cuando se obtiene únicamente una parte de la lesión, se usa en procesos amplios y lesiones superficiales de fácil acceso
Biopsia por Raspado	Se raspa con bisturí la epidermis y porción de la dermis, se usa en las lesiones superficiales (afeitado).

C. Información General: para la recepción de muestras para estudio Histopatológico provenientes de Morgue Central y todas las sedes departamentales.

a. El laboratorio de Histopatología de INACIF, atiende en los siguientes horarios: lunes a viernes de 8:00am a 16:00pm, para la recepción de muestras y entrega de resultados. Días Festivos: estos días permanece cerrado.

b. Dirección Física: Morgue Centra INACIF, Avenida del Cementerio 18-26 zona 3 Guatemala.

Dirección Electrónica: \_\_\_\_\_

Número Telefónico: \_\_\_\_\_ extensión -----

D. Reporte de Resultados: El laboratorio tiene varias formas para la entrega de resultados los cuales incluyen:

- Entrega en la Oficina de Médicos

- Correo Electrónico y/o la transferencia de esta a otro personal de la institución (mensajeros).

#### E. Guía de Archivo de Muestras y Resultados: (Disponibilidad)

Tipo de Muestra	Tiempo Disponible en que se guarda o almacena
Piezas Quirúrgicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piezas quirúrgicas, hasta un mes después de firmado el estudio</li> <li>• Bloques de parafina con tejido incluido, hasta diez años</li> <li>• Laminillas con cortes histológicos, hasta veinte años</li> <li>• Resultado final – 10 años</li> </ul>
Muestras procedentes de Autopsias	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tejidos residuales – hasta 3 meses después del reporte final</li> <li>• Bloques de parafina – 10 años</li> <li>• Laminillas – 20 años</li> <li>• Resultado final – 10 años</li> </ul>

#### F. Rechazo de Muestras

Puede ocurrir el rechazo de las solicitudes o requisiciones preparadas incorrectamente, incompletas o muestras identificadas incorrectamente. Los especímenes serán rechazados debido a la muestra incorrecta o ausente. Se le notificará al médico sobre las muestras rechazadas o problema identificado, ya sea durante la entrega de la muestra o durante la inspección y registro de cada muestra recibida.

#### G. Guía de procedimientos:

##### a. Instrucciones para ordenar pruebas

- Todo examen histopatológico se ordena mediante solicitud en papel (formulario No. .... Ver anexo (1)) proporcionado por la institución, que contenga la información requerida.
- Pueden solicitar examen histopatológico los médicos Peritos Profesionales de Inacif, con visto bueno del Coordinador de Morgue o sede, o el Ministerio Público por intermedio de auxiliares fiscales.
- Toda requisición o solicitud debe ser legible y estar documentada en todas las partes que apliquen.
- Se debe tener cuidado para que todas las secciones de la requisición se completen, incluyendo la identificación, tipo de espécimen(es), el tipo de examen solicitado y la información clínica necesaria, antecedentes pertinentes, otros hallazgos relevantes.
- Es responsabilidad del médico que toma la muestra o de aquel que está dentro del proceso de toma de muestra, el rotular la muestra inmediatamente.

##### b. Instrucciones para el Empaque y Manejo

- Todas las muestras enviadas al laboratorio deberán ir acompañadas de una solicitud.
- El espécimen debe ser rotulado correctamente, según indicado en sección anterior.
- Debe estar en un fijador adecuado.

- Toda muestra debe ser colocada en un recipiente a prueba de fugas o derrames, debidamente rotulada, y dentro de una bolsa de plástico [identificada como material biopeligroso] para el transporte de la muestra al laboratorio.
- Para las muestras con tapas removibles, la etiqueta debe ser colocada en la parte lateral del recipiente en lugar de la tapa. NO Rotular en la Tapa.
- No es aceptable rotular la bolsa de transporte y no rotular la muestra en el interior.
- La solicitud y la documentación adjunta deben ser colocadas en el exterior de la bolsa de transporte de la muestra para evitar la contaminación.

c. Recipientes y manejo:

- Recipientes que están en contacto directo con la muestra original, estos recipientes deben contener formalina neutralizada al 10%, requerido para la preservación y transporte.
- Poner la muestra dentro del recipiente primario, asegúrese que la muestra está completamente cubierta con la formalina.
- Rotular la muestra con la información requerida. Utilice las etiquetas disponibles en cada recipiente.
- Asegúrese que el recipiente está bien cerrado. Colóquelo dentro de una bolsa plástica con símbolo de biopeligroso.

c. Requisitos para el Análisis:

- Formalina neutralizada 10% - añadir aproximadamente 3 veces el volumen con relación al tamaño de la muestra. La muestra debe estar cubierta completamente con la solución fijadora (formalina).
- Utilizar siempre los envases apropiados.
- Muestras en formalina, mantener a temperatura ambiente.
- Si la muestra no tiene solución fijadora o no está suficientemente cubierta, esta se debe refrigerar y transportar lo antes posible. Para evitar la autólisis, las piezas deben obtenerse, almacenar apropiadamente o trasladar al laboratorio lo antes posible.
- La muestra para fijar no debe ser muy gruesa, pues de lo contrario las zonas centrales no se fijarán bien. El formol fija en 24h una muestra de un grosor de 3-5 milímetros, por lo cual las muestras enviadas no deben ser muy grandes. (se recomiendan muestras de 3 o 4 centímetros)
- Si se va a fijar un órgano en bloque para preservar la arquitectura del órgano se deben realizar incisiones, cortes, sobre su superficie y apertura de sus cavidades internas con el fin de que el líquido fijador alcance lo más rápidamente posible el interior del tejido. Para conseguir una buena fijación de órganos huecos éstos deben ser llenados con líquido fijador y atado en sus extremos. El volumen del fijador respecto al de la pieza, es un punto muy importante para la fijación, lo ideal es 1-20 como mínimo.

- Para lograr una fijación correcta el líquido tendrá que estar en contacto con todas las paredes del tejido, es por eso por lo que no es conveniente meter en un mismo frasco varias piezas porque podrían pegarse unas a otras y evitar la penetración del fijador.
- Si en una misma biopsia se presentan varios fragmentos nunca deben pegarse al ser sumergidos ni deben fijarse diferentes órganos en un mismo recipiente
- Los tejidos que flotan como por ejemplo grasa o tejido pulmonar no deben quedarse en la superficie por lo que deben envolverse en papel de filtro o gasa que pese, para que vayan hacia el fondo y así estén rodeados del fijador.

d. Casos no contemplados en este instructivo:

- Deberá haber una comunicación con el patólogo o personal del laboratorio antes de la toma de la muestra.
- El patólogo ofrecerá las instrucciones para asegurar una muestra apropiada.
- Asegure tener las instrucciones y todo lo necesario para preservar la muestra.
- Algunos tipos de muestras representan muestras críticas, imposibles de repetir.

H. Referencias:

1. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Normativa Técnica para la Regulación de los Servicios de Patología, Laboratorios de patología y Salas para Necropsias. Acuerdo ministerial 1151-2009. Guatemala. 2009
2. Mendoza. A. Manual de toma y envío de muestras a patología. 2015. Puerto rico. Laboratorio de patología de Southern Pathology Services inc. (sps)
3. Segura D. Fijación y Procesamiento de la Muestra. 2011. Departamento de Anatomía Patológica. HU V del R. Sevilla.

c/c/ licm. Diciembre 2019.

## Apéndice J. Post de presentación en Inacif y publicaciones




El Director General del Instituto Nacional de Ciencias Forenses  
**MSc. Fanuel Macbanai García Morales**

tiene el honor de invitarlo a la

**"Presentación de investigaciones científicas 2019-2020,  
 con el respaldo del Área de Investigación y  
 Desarrollo Científico del INACIF"**

21,22 y 23 DE OCTUBRE - 14:00 HORAS

21 DE OCTUBRE



Dr. Rafael Espada



Dra. Kelly Kamnikar



Dra. Lillian Isabel  
Cayax Menchú

22 DE OCTUBRE



Dr. Francisco Julio Chew



Dr. Georg Lietz



Dra. Dina G. Tiniakos



Dr. Roberto Elfidio  
Orozco Florián



Dr. Raúl Andrés  
Valdez González



Dr. Derek Joseph  
Wagner Olivares

23 DE OCTUBRE



Licda. Elizabeth Ana Valeria  
Ruano Lam



MSc. Erasmo Chen



Licda. Wendy  
Barillas Hernández



Licda. Cinthia Ivonne  
González Córdón



www.inacif.gob.gt



**PRESENTACIÓN VIRTUAL**  
ID 818 3226 8528

"Por un INACIF moderno, fiable, diligente y con respeto a la dignidad de las víctimas"

21,22 y 23 octubre 2020

## Evolución temporal de lesiones en piel y tejidos blandos utilizando técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica Postmortem temporal evolution of skin and soft tissue lesions using histochemical and immunohistochemical techniques

Lilian I. Cayax<sup>(1)</sup>

<sup>1)</sup> Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.  
Instituto Nacional de Ciencias Forenses, Guatemala, Guatemala.

Correspondencia: Dra. Lilian Cayax, lilianisabel1@yahoo.com

Recibido: 01/04/2020 Aceptado: 22/04/2020

### Resumen

*En la investigación de los hechos que rodean una muerte violenta, es particularmente útil establecer la antigüedad de las lesiones que se observan. En este estudio, se estableció la evolución temporal de lesiones en piel y tejidos blandos en muestras provenientes de cadáveres. Las necropsias médico legales fueron realizadas en el Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala (INACIF) y habían determinado la presencia de lesiones y se había efectuado estudio histopatológico de rutina.*

*Se realizaron nuevos cortes y se tiñeron con hematoxilina-eosina, Tricrómico de Masson e Inmunohistoquímica. La identificación positiva a Colágeno IV, CK 5 y EMA, estableció la presencia de ciertos componentes tisulares. La inmunohistoquímica permite identificar específicamente los constituyentes del tejido. Dado que los diferentes elementos celulares aparecen o desaparecen de acuerdo al tiempo que transcurre desde que se produce una lesión hasta el momento en que ocurre la cicatrización, es posible establecer el tiempo de antigüedad de las lesiones. **Palabras clave:** Lesión tisular. Cicatrización. Necropsia médico legal, Inmunohistoquímica.*

### Abstract

*In the investigation of the facts surrounding a violent death, it is particularly useful to establish the age of the injuries that are observed. In this study, the temporal evolution of skin and soft*

*tissue injuries was established in samples from cadavers. The medico-legal autopsies were performed at the Instituto Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala (INACIF) and had determined the presence of injuries and a routine histopathological study had been carried out.*

*New sections were made and stained with hematoxylin eosin, Masson's trichrome and Immunohistochemistry. Positive identification to Collagen IV, CK 5 and EMA, established the presence of certain tissue components. Immunohistochemistry allowed specific identification of tissue constituents. Because different cellular elements appear or disappear according to the time that elapses from the time an injury occurs to the moment healing occurs, it is possible to establish the age of the lesions.*

**Key words:** Tissue injury. Healing. Medico-legal autopsy. Immunohistochemistry

DOI: <https://doi.org/10.36109/rmg.v159i1.178>

### Introducción

El INACIF realiza un promedio de 6,500 necropsias por año, un gran porcentaje están relacionadas a violencia.<sup>[1]</sup> Cuando un médico forense realiza el examen externo del cadáver y encuentra lesiones como excoriaciones o heridas, debe establecer si fueron realizadas en vida y si es posible estimar el tiempo en el cual fueron efectuadas, para ello puede auxiliarse del estudio histopatológico. El estudio microscópico de la vitalidad de las lesiones y su progresión es el estudio del inicio y la progresión del proceso inflamatorio y reparativo.<sup>[2]</sup>

### Página 31

Citar: Cayax L, Evolución temporal de lesiones en piel y tejidos blandos utilizando técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica. Rev. Méd (Col. Méd. Cir. Guatem.). Jun. 2020;159(1):31-34.



**Ciencia Latina**  
Internacional

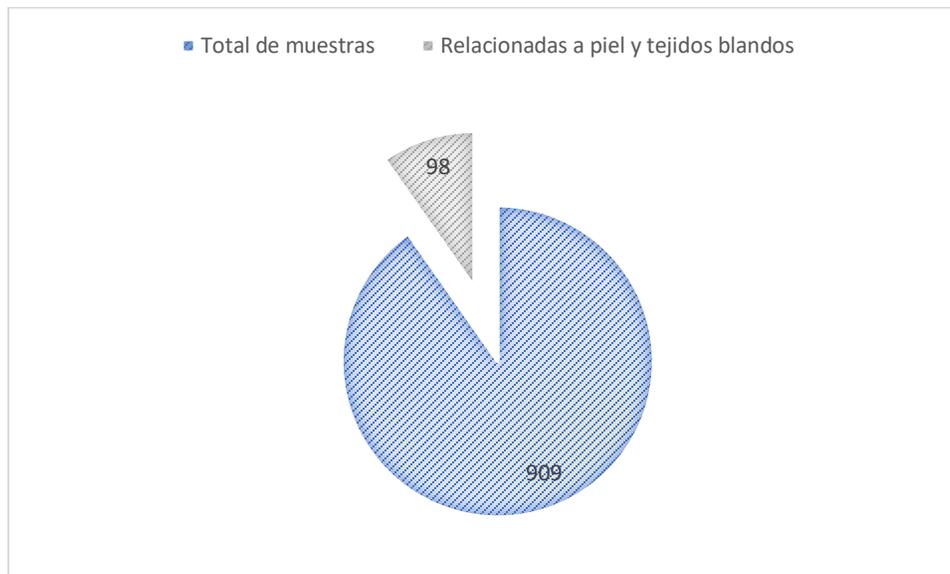
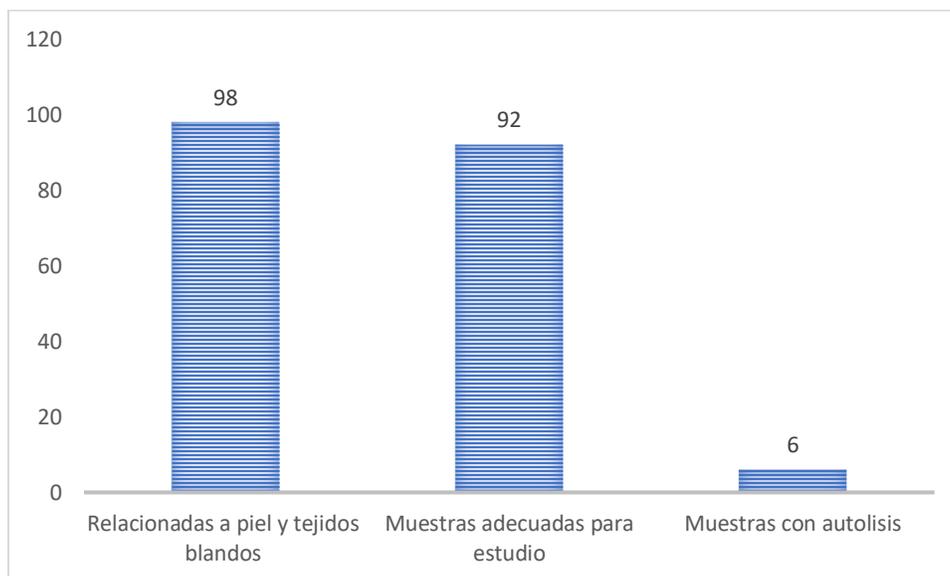
Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.  
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), enero-febrero 2024,  
Volumen 8, Número 1.

**DOI de la Revista:** [https://doi.org/10.37811/cl\\_rem.v8i1](https://doi.org/10.37811/cl_rem.v8i1)

**VALOR DEL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO  
DE LESIONES TRAUMÁTICAS EN PIEL Y  
MUCOSAS ENCONTRADAS EN CADÁVERES**

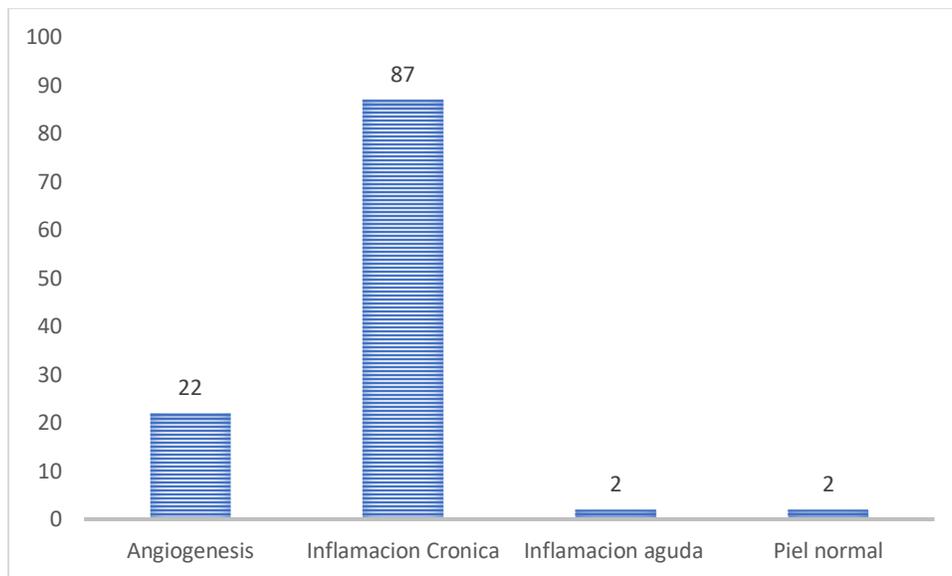
THE IMPORTANCE OF THE HISTOPATHOLOGICAL STUDY  
OF TRAUMATIC LESIONS ON SKIN AND MUCOUS  
MEMBRANES IN CORPSES

**Lilian Isabel Cayax Menchú**  
Universidad de San Carlos, Guatemala

**Apéndice K. Graficas****Gráfica No. 1***Muestras Relacionadas a Piel y Tejidos Blandos***Gráfica No. 2***Muestras Adecuadas para estudio Histopatológico*

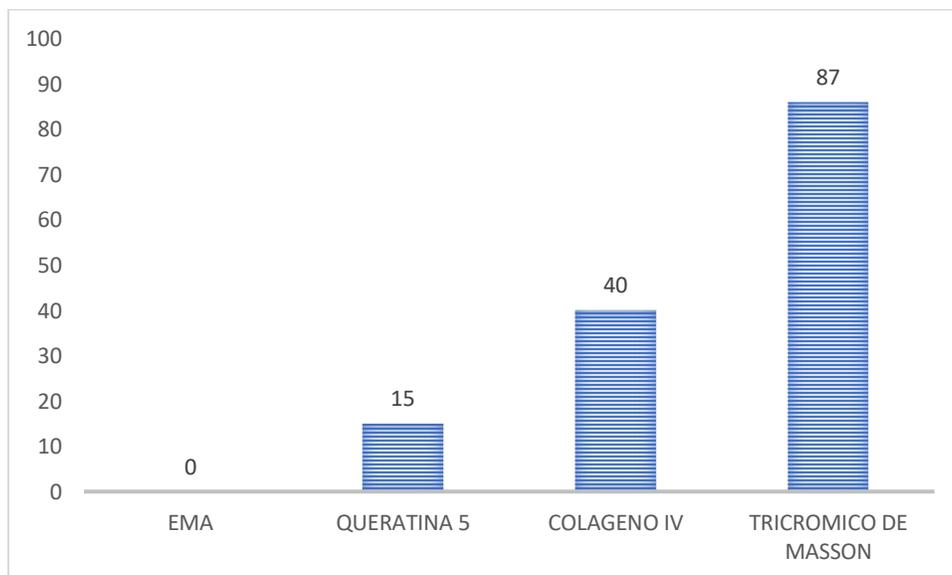
### Gráfica No. 3

*Número de casos (tinción H & E)*



### Gráfica No. 4

*Número de casos positivos histoquímica e inmunohistoquímica*



### Grafica No. 5

*Número de casos y temporalidad de las lesiones*

