

## ¿CUÁNDO SE PRODUJERON LAS LESIONES? PERSISTE LA INCERTIDUMBRE

### WHEN DID THE INJURIES OCCUR? UNCERTAINTY PERSISTS

Castelló A.  
Pascual E.  
Departamento de Medicina Legal.  
Universitat de València.  
España.

Correspondencia: [acastell@uv.es](mailto:acastell@uv.es)

**Resumen:** Dictaminar si una lesión se produjo antes o después de la muerte es sin duda, muy relevante y tiene indiscutibles consecuencias desde todos los puntos de vista. Es un asunto que se lleva intentando resolver desde la antigüedad y actualmente, aunque se dispone de una tecnología avanzada, continúa siendo el caballo de batalla de diferentes grupos de investigación. Es este trabajo tras una introducción y antecedentes, se reúnen y comentan algunas de las aportaciones que tratan de dar respuesta a la interesante cuestión.

**Palabras clave:** vitalidad de las lesiones, marcadores de vitalidad, reacción vital, forense.

**Abstract:** Deciding whether an injury occurred before or after death is undoubtedly very relevant and has indisputable consequences from all points of view. It is a matter that has been trying to be resolved since ancient times and currently, although advanced technology is available, it continues to be the workhorse of different research groups. In this work, after an introduction and background, some of the contributions that try to answer the interesting question are gathered and discussed.

**Keywords:** wound vitality, vitality marker, vital reaction, forensic.

### INTRODUCCIÓN

¿Es equivalente lesionar a una persona o a un cadáver? La lógica nos dice que la respuesta correcta es que no. También lo es desde el punto de vista judicial. Porque no hace falta recordar que el hallazgo de numerosas heridas por arma blanca *antemortem*, podrían ser el sustento del agravante de *ensañamiento*. Por el contrario, si se demuestra su producción *postmortem*, no existe esa opción.

### ANTECEDENTES

Estamos ante un problema que no es nuevo, sino que ha preocupado y ocupado a los médicos desde el inicio de la Historia de la Medicina.

Para tratar de resolverlo dentro de lo posible, se recurrió a los denominados signos de vitalidad. A los alumnos de Derecho siempre les pido que recuerden la última vez que se cortaron -por supuesto sin querer, aunque muchas veces (esto también es cierto) pensando "*lo estoy haciendo mal*"-, con una hoja de papel. Es ese momento mala pata en el que un hasta entonces considerado inofensivo folio, consigue hacernos una *miniherida* que a pesar de su tamaño, molestará sin parar durante días. Si a pesar del ataque de ira, tuvieron la curiosidad de observar detenidamente su evolución, percibirían un enrojecimiento en la piel en la zona de la lesión, junto con el inevitable dolor, hinchazón y una ligera sensación de calor (esto último es quizá, lo menos perceptible).

Pues bien, estos cuatro signos -rubor, dolor, tumor y calor- son los que desde la antigüedad, se considera que describen una reacción inflamatoria, muestra incuestionable de vitalidad puesto que nunca se producirá en un cadáver.

Ese "*desde la antigüedad*" se refiere a muchísimos años atrás. Concretamente al periodo comprendido entre el 53 a.C. al 7 d.C, momento en el que a un sabio de la época, Aulo Cornelio Celso, se le ocurrió elaborar una completísima enciclopedia -con el título de *Artes*- en la que recopiló todo el saber científico existente<sup>1</sup>.

En el cuarto tomo de su trabajo fue donde atribuyó a los indicios que se indican arriba -rubor, dolor, tumor y calor-, el importante estatus de marcadores de inflamación.

<sup>1</sup> El texto de "*On Medicina*" en:  
<http://www.perseus.tufts.edu/hopper/searchresults?q=celsus>

Unos años más tarde, fue incluido un quinto indicador. El responsable de esta inclusión, fue un conocido e ilustre médico griego, Galeno de Pérgamo<sup>2</sup>. Lo denominó *functio laesa*, que tal como indican los diccionarios médicos, hace referencia a la pérdida de funcionalidad.

## SEGUIMIENTO

Desde entonces y hasta este preciso momento, nunca dejó de estudiarse ese fascinante proceso, por el que somos por propios medios, capaces de reparar los daños causados a nuestro organismo, sin ni siquiera saber cómo.

Obviamente no se va a plantear problema alguno en dos situaciones:

- Cuando las lesiones son sin duda alguna vitales.
- Cuando son sin duda alguna, post vitales.

Pero ya sabemos que la muerte de un organismo no es un proceso instantáneo, sino gradual. También que hay diferentes factores que influyen la evolución del proceso de muerte (causa, estado físico, medicación...). Por eso existirán dudas cuando las lesiones se producen en el periodo cercano al mencionado fallecimiento.

Vamos, si nos permiten, a dar un salto en el tiempo, hasta encontrarnos en 1896, con Gabriel Tourdes quien en su *Traité de médecine légale théorique et pratique*<sup>3</sup>, aunó los conocimientos aportados hasta el momento por diferentes especialistas, para describir con detalle aquello en lo que los médicos forenses debían fijarse, para determinar si una lesión se generó antes o después de la muerte. Y aún hace algo más: advierte de la necesidad de valorar la existencia de lo que denomina *effects vitaux secondaires*, que se deben a que, como es indiscutible hoy en día, la muerte biológica no es un proceso instantáneo.

Dicho de otra forme: que ante un diagnóstico de muerte cierta, certísima, sería necesario tener en cuenta que *“Tout les organs ne meurent pas en même temps”*. Lo que justifica que tal como él defiende, no sea posible en forma alguna (a menos, añadimos nosotros, que uno haya estado presente y sido testigo o participante directo) afirmar sin duda la naturaleza vital o postvital en un intervalo de tres horas alrededor de la muerte.

Estas *más menos tres horas*, es lo que en los manuales de Medicina Legal se conoce como *periodo de incertidumbre de Tourdes*. También es contra lo que se pelea incansablemente desde entonces, con el objetivo principal de reducirlo todo lo posible, e incluso, siendo optimistas, anularlo. Como ustedes saben y tendremos ocasión de comprobar, sin mucho éxito.

Atendiendo a las instrucciones del mencionado profesor Tourdes, otro ilustre científico de la época, Henri Legrand du Saulle<sup>4</sup>, publicó unas indicaciones básicas para ser capaces de diferenciar las heridas hechas en vida, -fuera de esas incordiosas tres horas- de las que habían generado sobre un cadáver. Debemos recordar que su esquema se estudia todavía en los cursos de Medicina Legal y de nuevo recurro a lo que les propongo a mis alumnos de Derecho: les digo que es tan lógico que podemos deducirlo nosotros mismos, a poco esfuerzo que se haga. Volvamos al momento anterior en el que imaginamos que por un descuido, nos cortamos. Además de los signos que nos adelantó Aulo Cornelio Celso, tenemos lo siguiente:

- Habrà sangrado, puesto que nuestro corazón funciona, bombea y la sangre ha encontrado un escape.

<sup>2</sup> Se puede ver en este enlace:

<https://www.webcir.org/elrincondelahistoria/galeno.php>

*“Estableció el principio según el cual toda alteración de una función deriva de la lesión de un órgano y, en consecuencia toda lesión de un órgano provoca una alteración de una función”*.

<sup>3</sup> Disponible en:

<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k767959/f538.image>

También en esta otra dirección:

<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k767959/f409.image.r=Leçons%20sur%20les%20effets.langFR>

<sup>4</sup> Se encuentra en el tercer tomo de su *Tratado de Medicina Legal de Jurisprudencia Médica y de Toxicología*. Disponible en el siguiente enlace (la tabla en cuestión en la página 299):

<https://ia601205.us.archive.org/13/items/BRes060979/BRes060979.pdf>

- Si todo va como debe, inmediatamente se pondrán en funcionamiento los sistemas de reparación de daños y con algo de tiempo, la sangre coagulará.

- Según el profesor Legrand du Salle, los labios de la herida aparecerán separados debido a la elasticidad de la piel<sup>5</sup>.

Hay que añadir que por efecto de la inflamación se verán engrosados e infiltrados en sangre (Imagen 1).

| <i>Durante la vida.</i>   | <i>Después de la muerte.</i>   |
|---|--|
| <p>1.º Labios de la herida hinchados, infiltrados de sangre, densos, separados uno de otro por la retracción del dermis ó de los tejidos subyacentes; más tarde exudación de linfa plástica, supuración y aungangrena.</p> <p>2.º Hemorragia arterial más ó menos abundante, con infiltración de sangre en los tejidos circunyacentes.</p> <p>3.º Sangre coagulada en el fondo de la herida ó sobre la piel que la rodea.</p> | <p>1.º Labios de la herida blandos, no hinchados, aproximados y no invertidos; ni linfa plástica ni supuración.</p> <p>2.º Nada de hemorragia ó hemorragia venosa, sin infiltración en los tejidos comarcanos; alguna vez se percibe la sección de una arteria voluminosa que no ha dado sangre.</p> <p>3.º No hay sangre coagulada.</p> |

Imagen 1: extraída de <https://ia601205.us.archive.org/13/items/BRes060979/BRes060979.pdf>

Debemos remarcar en este punto que las observaciones del ilustre profesor son de aplicación para lesiones que se sabe que son vitales o postvitales sin duda y por tanto, nos dejan con el periodo de incertidumbre intacto y sin resolver.

Lo que nos conduce a diferentes cuestiones:

*¿Podemos esperar que inmediatamente después de la muerte, una herida parezca vital?*

En esa misma situación *¿es factible que se formen coágulos?*

Como todos saben y desgraciadamente, la respuesta a las dos es *que sí*. Entendemos que este es el motivo por el que el Profesor Legrand du Saulle, tuvo tanto cuidado en esquivar el dichoso más-menos tres.

No obstante no está de más revisar los signos originales. Porque a lo mejor hemos avanzado algo.

Para empezar, es obvio que si el corazón se ha detenido, no debería haber sangrado. Pero también lo es, que la posición del cuerpo puede facilitar el que este se produzca. Es el efecto de la fuerza de la gravedad.

Con lo referente a la coagulación, sabemos que es un efecto que captó la atención de los científicos desde la antigüedad. Ya entonces no era ningún secreto que tras haberse producido la muerte –en contra, una vez más, de lo que conviene a los investigadores forenses- se conserva durante un tiempo.

Sin embargo y afortunadamente podemos añadir, en esta situación el proceso no es tan eficaz como en vida y en consecuencia, los coágulos pierden en consistencia.

Esto es lo que justifica cómo un chorrillo de agua se convierte en un instrumento útil para determinar su naturaleza vital o postvital. Se trata de comprobar si se desprenden y deshacen con mayor o menor facilidad.

Visto lo visto, parece que aceptar la vigencia del periodo de incertidumbre es más que necesario.

Pero, ahondemos en el asunto por si acaso. Porque aunque sabemos que esto es lo que pasa, queda revisar el porqué. Repasemos los lo que sabemos de nuevo.

<sup>5</sup> Este efecto en nuestra opinión, no depende de la vitalidad y postvitalidad, sino de la dirección de las líneas elásticas de la piel con respecto al de la lesión. De forma que si hay coincidencia, es decir, las líneas de tensión coinciden con la dirección de la lesión, se abrirá menos. Y si no la hay (caso extremo, son perpendiculares), se abrirá más.

Volvamos a los primeros años del siglo pasado, al momento en el que el Doctor Paul Morawitz, publicó una serie de trabajos para describir los cuatro factores de coagulación conocidos entonces (fibrinógeno, trombina, trombocinas y calcio). Y no sólo eso, sino que además, propuso un modelo del proceso en dos etapas: generación de trombina y coagulación del fibrinógeno<sup>6</sup>.

Desde entonces y sin parar, tanto el proceso de coagulación de la sangre y como la inflamación han sido estudiados exhaustivamente.

Se sabe que ante una lesión –recordemos el minicorte malasma hecho por la hoja de papel- se pone en marcha un complicado proceso, perfectamente coordinado, que tiene como objetivo reparar el daño causado.

Hoy en día, contamos con interesantes colaboradores, entre ellos la óptica y los todopoderosos aparatos de los que constan los laboratorios de Química Analítica y Bioquímica y aparentemente, se ha avanzado mucho, pero a pesar de eso, debemos ser capaces de reconocer que la inflamación sigue manteniendo en parte su misterio.

Y esta es la razón de que hubo esperanza de conseguir la reducción de los ciento ochenta minutos, gracias al estudio microscópico y químico de las lesiones.

## APORTACIONES

No es la intención de este trabajo el abordar una revisión exhaustiva de los trabajos publicados sobre el asunto en cuestión, tan sólo recordar algunos que, a nuestro juicio, pueden ser relevantes. Vamos aportando y veremos a qué nos conduce.

Comencemos por un interesante texto publicado en 2004, por el profesor Manfred Oehmiche, titulado *Vitality and time course of wounds*, en el que se revisa con toda atención el proceso y los posibles marcadores<sup>7</sup>. Es un completísimo estudio en el que tras advertirnos lo siguiente “*Aunque tenemos que sugerir una regularidad distinta del proceso de cicatrización de heridas (estériles)], también tenemos que aceptar una amplia variabilidad de la fenomenología dependiente del tiempo, que es causada por varios factores como la edad, el sexo, la localización de la herida, sistemas de órganos involucrados, extensión de la herida, capacidad circulatoria, respiratoria e inmunológica, tiempo entre la herida y la muerte, así como la duración de la fijación en formalina, etc*”, incluye la siguiente tabla:

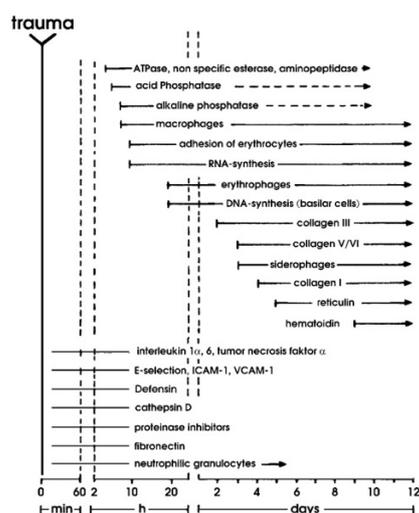


Imagen 2: De Oehmichen M. Vitality and time course of wounds. Forensic Sci Int. 2004; 144 (issues 2-3):221–231.

<sup>6</sup> Las referencias de algunos de ellos (todos escritos en alemán) son las siguientes:

Morawitz P. Beiträge zur kenntnis der blutgerinnung. Beitr Chem Physiol Pathol 1904; 5:133-141.

Morawitz P. Beiträge zur kenntnis der blutgerinnung. 2 Mitteilung. Deutsche Arch Klin Med. 1904; 79:215-233.

Morawitz P. Die Chemie der Blutgerinnung. Ergebn Physiol 1905; 4: 307-423.

<sup>7</sup> La referencia del artículo es la que sigue:

Oehmichen M. Vitality and time course of wounds. Forensic Sci Int. 2004; 144 (issues 2-3):221–231.

Como conclusión expone lo que viene a continuación: *“Meanwhile we have a couple of methods which may be applied on forensic material and allow a rough estimation of the survival time of a traumatic event—at least in wounds of the skin and brain. However, we have always to be aware of the variability of the phenomena and we have to be cautious in interpreting the results as absolutely exact. Moreover, we have to state that a statistical work up was carried out only in a material of human mechanically caused brain injuries (cortical hemorrhages) but still not in a material of skin wounds. We have to consider that all mentioned phenomena are not expressed in every case at the same post-traumatic interval, but only in a certain percentage of cases of specific survival times. The forensic question according to the degree of certainty will arise in court when the presence or absence of one of the phenomena has to be interpreted. This will be one of the most important problems in the future”*<sup>8</sup>. Así que introduce serias dudas sobre las posibilidades. Como es lógico la secuencia del proceso es como se expone, lo que es imposible determinar es la duración de cada etapa, dependiente de innumerables e incontrolables factores.

Más adelante, en 2010, se da a conocer otro artículo de revisión, que debemos a la profesora Rossana Cecchi - *Estimating wound age: looking into the future*<sup>9</sup>- del que extraemos algunos párrafos que, a nuestro entender, ilustran perfectamente la dificultad del asunto:

*“A chronological study of wounds must always take into consideration, in the evaluation, local factors (size and type of lesion), and type of damaged tissue, as well as responsiveness of the individual, systemic factors that may influence the timing of wound healing (such as malnutrition) and clinical history (diabetes, immune deficiencies, vascular disease, collagen), medical treatment (antiblastic, glucocorticoids, radiation), and the subject’s age that would appear to influence the course of the inflammatory response”.*

*“The timing of injury has to be sustained by evidence that can be presented as proof in court. For this purpose, it is essential to take into account the accumulated experience which has ensured greater value of evidence in the trial, in which the parameters used (cell type or substance) are absent in physiological conditions, appear regular in time and disappear after a given time. Knowledge concerning the regularity of its occurrence, presence and disappearance (time limits) provides reliable information, particularly if absent, which indicates timing of the lesion, less than or greater than the known time limit for that specific parameter.*

*The contradictory results obtained, in some cases, in the various studies suggest that intrinsic and extrinsic factors, methodology used and the time elapsed from death all influence the results. Each technique and each parameter need a different approach in the assessment of results”*<sup>10</sup>.

---

<sup>8</sup> Traducido: *“Mientras tanto, tenemos un par de métodos que se pueden aplicar en material forense y permiten una estimación aproximada del tiempo de supervivencia de un evento traumático, al menos en heridas de la piel y el cerebro. Sin embargo, siempre debemos ser conscientes de la variabilidad de los fenómenos y debemos ser cautelosos al interpretar los resultados como absolutamente exactos. Además, debemos afirmar que se realizó un trabajo estadístico solo en un material de lesiones cerebrales humanas causadas mecánicamente (hemorragias corticales) [36]pero todavía no en un material de heridas en la piel. Hay que tener en cuenta que todos los fenómenos mencionados no se expresan en todos los casos en el mismo intervalo postraumático, sino sólo en un determinado porcentaje de casos de tiempos de supervivencia determinados. La cuestión forense según el grado de certeza se planteará en los tribunales cuando haya que interpretar la presencia o ausencia de uno de los fenómenos. Este será uno de los problemas más importantes en el futuro”.*

<sup>9</sup> La referencia es la siguiente:

Cecchi R. Estimating wound age: looking into the future. Int J Legal Med. 2010; 124:523-536.

<sup>10</sup> Traducción de los párrafos incluidos en el texto:

*“Un estudio cronológico de las heridas siempre debe tener en cuenta, en la evaluación, los factores locales (tamaño y tipo de lesión) y el tipo de tejido dañado, así como la capacidad de respuesta del individuo, factores sistémicos que pueden influir en el tiempo de curación de la herida ( como desnutrición) y la historia clínica (diabetes, inmunodeficiencias, enfermedad vascular, colágeno), tratamiento médico (antiblasticos, glucocorticoides, radiación) y la edad del sujeto que parecería influir en el curso de la respuesta inflamatoria”.*

*“El momento de la lesión debe sustentarse en pruebas que puedan presentarse como prueba ante un tribunal. Para ello, es fundamental tener en cuenta la experiencia acumulada que ha asegurado un mayor valor probatorio en el juicio, en el que los parámetros utilizados (tipo celular o sustancia) están ausentes en condiciones fisiológicas, aparecen regulares en el tiempo y desaparecen tras un tiempo dado. El conocimiento de la regularidad de su aparición, presencia y desaparición (límites de tiempo) proporciona información fiable,*

Otros investigadores (como por ejemplo De Casse et al.) se centran en datar la lesión para alcanzar el mismo objetivo anterior: conocer si es ante o postmortem<sup>11</sup>. Extraemos algunos párrafos de su estudio:

*“Wound age evaluation is one of the most challenging issues in forensic pathology. In the first minutes or hours, standard histological examination may not determine whether the wound was inflicted in the pre- or post-mortem period. While red blood cell infiltration is classically considered as a sign of vital reaction, several studies have shown that extravasation of blood cells may also occur after death and cannot be used as a reliable marker in the diagnosis of wound vitality”.*

*“Some promising markers have been later invalidated because of post-mortem false positivity. Finally, optimal sensitivity and specificity values could probably be reached by combining several markers, validated by large groups of pre- and post-mortem wounds”<sup>12</sup>.*

Otros grupos se han centrado en evaluar la presencia (o ausencia) de determinados marcadores. Veamos algunos ejemplos:

- Algunos utilizan marcadores bioquímicos como las metaloproteasas. Valga como ejemplo el texto publicado por el profesor Ishida y sus colaboradores<sup>13</sup>, en el que indican lo siguiente:

*“The molecular mechanisms of wound healing are not fully understood but involve growth factors, cytokines, adhesion molecules, and matrix metalloproteases (MMPs)”*

*“Several lines of accumulating evidence indicated that MMPs would be involved in every phase (inflammation, proliferation, and maturation) of skin wound healing”.*

Y especifican sus condiciones experimentales:

*“A total of 55 human skin wounds (9 stab wounds, 21 incised wounds, 14 surgical wounds, and 11 lacerations) with wound ages of a few minutes to 21 days were obtained from forensic autopsies (Department of Forensic Medicine, Institute of Legal Medicine, University of Munich, Germany). The ages of the victims ranged from 7 to 83 years (mean age, 45.8 years), and the postmortem interval was less than 3 days in each case. None of the case had suffered from severe malnutrition, malignant diseases, or metabolic disorders, and no substance such as cytostatic agents or glucocorticoids that could have influenced wound repair were administered during medical treatment”<sup>14</sup>.*

---

*especialmente si está ausente, que indica el momento de la lesión, menor o mayor que el límite de tiempo conocido para ese parámetro específico.*

*Los resultados contradictorios obtenidos, en algunos casos, en los distintos estudios sugieren que los factores intrínsecos y extrínsecos, la metodología utilizada y el tiempo transcurrido desde la muerte influyen en los resultados”.*

<sup>11</sup> De Casse JM. et al. Skin wounds vitality markers in forensic pathology: An updated review. Med Sci Law. 2016; 56(2):128-137. doi: 10.1177/0025802415590175.

<sup>12</sup> Traducción:

*“La evaluación de la edad de la herida es uno de los temas más desafiantes en la patología forense. En los primeros minutos u horas, el examen histológico estándar puede no determinar si la herida se infligió en el período pre o post mortem. Si bien la infiltración de glóbulos rojos se considera clásicamente como un signo de reacción vital, varios estudios han demostrado que la extravasación de glóbulos también puede ocurrir después de la muerte y no puede usarse como un marcador confiable en el diagnóstico de la vitalidad de la herida”.*

*“Algunos marcadores prometedores se han invalidado posteriormente debido a la falsa positividad post-mortem. Finalmente, los valores óptimos de sensibilidad y especificidad probablemente podrían alcanzarse combinando varios marcadores, validados por grandes grupos de heridas pre y post mortem”.*

<sup>13</sup> Ishida Y. et al. Immunohistochemical analysis on MMP-2 and MMP-9 for wound age determination. Int J Legal Med. 2015; 129:1043–1048.

<sup>14</sup> Traducción:

*“Los mecanismos moleculares de la cicatrización de heridas no se comprenden por completo, pero involucran factores de crecimiento, citocinas, moléculas de adhesión y metaloproteasas de matriz (MMP)”.*

*“Variadas líneas de evidencia acumulada indicaron que las MMP estarían involucradas en cada fase (inflamación, proliferación y maduración) de la cicatrización de heridas en la piel”.*

*“Se obtuvo un total de 55 heridas en la piel humana (9 heridas de arma blanca, 21 heridas incisas, 14 heridas quirúrgicas y 11 laceraciones) con heridas de unos pocos minutos a 21 días de antigüedad a partir de autopsias forenses (Departamento de Medicina Forense, Instituto de Medicina Legal, Universidad de Munich, Alemania). Las edades de las víctimas oscilaron entre 7 y 83 años (edad media, 45,8 años), y el intervalo post mortem fue inferior a 3 días en cada caso. Ninguno de los casos había padecido desnutrición*

- Otros se han centrado en el ARN mensajero y las quimiocinas (concretamente CXCL1 y CXCR2)<sup>15</sup>.

Veamos algunas de sus aportaciones junto con las condiciones en que se obtuvieron, para valorar mejor su validez y limitaciones:

*“This study investigated mRNA and protein levels of CXCL1 and CXCR2 in mouse and human skin wounds and discusses the possibility of using these molecules as potential markers of the vitality of skin contusion”.*

*“...two full-thickness contusions, one on each side of the midline, were generated by a flat mouth tong. After 0.5 h, the mice were killed. They were left at room temperature (24 °C) before a 5 mm × 5 mm contused skin section was excised at 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, and 120-h intervals (3 mice in each group) after death. Control skins were collected from non-contused mice (3 mice). Three mice had their dorsal hair shaved before they were killed for postmortem injury tissue sampling. Two full-thickness contusions were made 0.5 h postmortem using flat mouth tongs. Postmortem contused skin samples were excised immediately after contusion. All samples were frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C”.*

*“Human skin wound samples from forensic autopsy cases (n = 5) were examined. Intact regions without any injury were taken from the abdominal skins of the same individuals as control samples. All of the deaths in the study population were due to traumatic injuries as the result of traffic accidents”.*

*“Of note, CXCL1 and CXCR2 protein expression, detected by WB, showed no significant differences between injured and intact regions, which may be caused by differences in translation efficiency or RNA/protein kinetics, and the lower sensitivity of WB in detecting changes in gene products than that with quantitative analyses of gene expressions using RT-qPCR.*

*Collectively, the present study using mouse and postmortem human skin tissues suggests that the detection of mRNA levels, not protein levels of CXCL1 and CXCR2, might be useful for the determination of wound vitality”<sup>16</sup>.*

- En el mismo sentido, en este otro trabajo (Azem A. et al.), analizan diferentes marcadores<sup>17</sup>.

Para empezar, plantean el problema:

*“Until now, it has been difficult to determine wound timing in forensic medicine; however, it will contribute to the reconstruction of crime scenes and cause the arrest of a suspect. 1 Forensic pathologists should establish the temporal order of injuries in cases involving multiple traumas by different offenders. In cases of killing, the major focus is on*

*severa, enfermedades malignas o trastornos metabólicos, y durante el tratamiento médico no se administró ninguna sustancia como citostáticos o glucocorticoides que pudieran haber influido en la reparación de la herida”.*

<sup>15</sup> Jie-Tao He et al. CXCL1 and CXCR2 as potential markers for vital reactions in skin contusions. *Forensic Sci Med Pathol.* 2018; 14:174–179.

<sup>16</sup> Traducción:

*“Este estudio investigó los niveles de proteína y ARNm de CXCL1 y CXCR2 en heridas cutáneas humanas y de ratón y analiza la posibilidad de utilizar estas moléculas como marcadores potenciales de la vitalidad de la contusión cutánea”.*

*“...se generaron dos contusiones de espesor completo, una a cada lado de la línea media, con una pinza de boca plana. Después de 0,5 h, se sacrificaron los ratones. Se dejaron a temperatura ambiente (24 °C) antes de extirpar una sección de piel contusa de 5 mm × 5 mm a intervalos de 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 h (3 ratones en cada grupo) después de la muerte. Se recogieron pieles de control de ratones no contusionados (3 ratones). A tres ratones se les afeitó el pelo dorsal antes de sacrificarlos para tomar muestras de tejido de lesiones post mortem. Se hicieron dos contusiones de espesor completo 0,5 horas después de la muerte utilizando pinzas de boca plana. Las muestras de piel contusionadas post mortem se extirparon inmediatamente después de la contusión. Todas las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C”.*

*“Se examinaron muestras de heridas de piel humana de casos de autopsias forenses (n = 5). Se tomaron regiones intactas sin lesión alguna de las pieles abdominales de los mismos individuos como muestras de control. Todas las muertes en la población de estudio se debieron a lesiones traumáticas como consecuencia de accidentes de tráfico”.*

*“Cabe destacar que la expresión de proteínas CXCL1 y CXCR2, detectada por WB, no mostró diferencias significativas entre las regiones lesionadas e intactas, lo que puede deberse a diferencias en la eficiencia de traducción o la cinética de ARN/proteína, y la menor sensibilidad de WB para detectar cambios en los productos genéticos. que con análisis cuantitativos de expresiones génicas mediante RT-qPCR.*

*En conjunto, el presente estudio con tejidos de piel humana post mortem y de ratón sugiere que la detección de niveles de ARNm, no los niveles de proteína de CXCL1 y CXCR2, podría ser útil para determinar la vitalidad de la herida”.*

<sup>17</sup> Azem A. et al. Histopathological, immunohistochemical, and molecular studies for determination of wound age and vitality in rats. *Int Wound J.* 2019 Dec; 16(6): 1416–1425. doi: 10.1111/iwj.13206

*whether an injury was caused while the individual was alive or during the post-mortem period and how long the victim survived after the wound was inflicted”.*

Las condiciones experimentales son las que sigue. Verán que se parte de muestras procedentes de ratas y obtenidas en determinadas condiciones. Esto obligatoriamente, se debe valorar antes de intentar extrapolar a las que se obtienen en casos reales derivadas de humanos:

*“Eighteen male Wister rats (weighing 170-200 g) were obtained from Holding Company for Biological Products and Vaccines (VACSERA), Helwan, Egypt. All animals were housed in plastic cages (three rats per cage) in a well-ventilated environment and received a daily illumination of 16 hours of light. They were fed on dry commercial standard pellets and gained access to tap water ad libitum throughout the experimental period. They were acclimatised to the environment for 2 weeks prior to the onset of the experiment use to ensure their healthy state.*

*Prior to wound induction, rats were anaesthetised with intramuscular injections of xylazine 10 mg/kg and ketamine 90 mg/kg. The area was marked with a pencil to determine wound margins and then shaved with an electric clipper at the dorsal back of the animal. Full-thickness (extending up to adipose tissue) circular wounds (2 cm<sup>2</sup> × 2 cm<sup>2</sup>) was created using a sterile biopsy punch. Wounds were left open without treatment for 14 days. Rats (n = 3) were euthanised at 0, 1, 3, 5, 7, and 14 days from the starting point of wound induction. To evaluate the impact of post-mortem degeneration, skin wound excision was performed at 1, 3, 5, and 7 days after the rats were euthanised to compare between vital and post-mortem wound”.*<sup>18</sup>

- Avancemos unos años, para llegar a una completa revisión del asunto<sup>19</sup>.

Destacamos algunos párrafos que, a nuestro juicio, dan a entender cuál es el contenido del texto:

*“According to Bernhard Knight a “vital reaction” (VR) is a dubiously valid phenomenon, mainly due to the fact that death and dying is a process and not an event. It is rather the proof that a specific system, organ, tissue, cell or metabolic process was still functional. That does not necessarily proof that the individual was still alive since brain death may have occurred already. However, apart from this vital reactions are considered a proof that their occurrence is strongly depending on vital conditions.*

*The question whether an injury was sustained during life or not is one of the most important subjects in forensic medicine. The term “vital reaction” describes effects in, at or by the body mostly following trauma and allowing the conclusion that the trauma occurred during life”.*

Su intención es la que sigue:

<sup>18</sup> Traducción:

*“Hasta ahora, ha sido difícil determinar el momento de la herida en medicina forense; sin embargo, contribuirá a la reconstrucción de las escenas del crimen y provocará el arresto de un sospechoso. Los patólogos forenses deben establecer el orden temporal de las lesiones en los casos de politraumatismos por diferentes delincuentes. En los casos de homicidio, el enfoque principal se centra en si se causó una lesión mientras el individuo estaba vivo o durante el periodo post mortem y cuánto tiempo sobrevivió la víctima después de infligir la herida”.*

*“Dieciocho ratas Wister macho (con un peso de 170 a 200 g) se obtuvieron de Holding Company for Biological Products and Vaccines (VACSERA), Helwan, Egipto. Todos los animales se alojaron en jaulas de plástico (tres ratas por jaula) en un ambiente bien ventilado y recibieron una iluminación diaria de 16 horas de luz. Fueron alimentados con gránulos estándar comerciales secos y tuvieron acceso a agua del grifo ad libitum durante todo el periodo experimental. Fueron aclimatados al medio ambiente durante 2 semanas antes del inicio del uso del experimento para asegurar su estado saludable.*

*Antes de la inducción de la herida, las ratas se anestesiaron con inyecciones intramusculares de 10 mg/kg de xilazina y 90 mg/kg de ketamina. El área se marcó con un lápiz para determinar los márgenes de la herida y luego se afeitó con una maquinilla eléctrica en la parte dorsal del animal. Se crearon heridas circulares de espesor total (que se extienden hasta el tejido adiposo) (2 cm<sup>2</sup> × 2 cm<sup>2</sup>) utilizando un punzón de biopsia estéril. Las heridas se dejaron abiertas sin tratamiento durante 14 días. Las ratas (n = 3) se sacrificaron a los 0, 1, 3, 5, 7 y 14 días desde el punto de inicio de la inducción de la herida. Para evaluar el impacto de la degeneración post mortem, se realizó la escisión de la herida de la piel 1, 3, 5 y 7 días después de sacrificar a las ratas para comparar entre heridas vitales y post mortem.*

<sup>19</sup> Madea M, Doberentz E, Jackowski C. Vital reactions – An updated overview. Forensic Sci Int. 2019; 305:110029. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110029>

“The present review article intends to provide a categorized overview on forensically relevant VR as support for daily casework”.

Incluyen la siguiente tabla de variables (Imagen 3), que, por si misma, muestra la dificultad de llegar a conclusiones precisas:

**Table 3**

Potential influencing factors on the time course of local vital reactions after tissue damage (according to Helpap).

|                   |   |
|-------------------|---|
| Local factors     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- manner and intensity of trauma</li> <li>- severity and extension of the alteration</li> <li>- type of the affected tissue</li> <li>- temperature</li> <li>- blood circulation (e.g. reduction of peripheral circulation during shock)</li> </ul> |
| General factors   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- hereditary factors, age, gender</li> <li>- nutritional status</li> <li>- additional diseases</li> <li>- endocrine influences</li> <li>- vegetative influences</li> <li>- metabolic disorders</li> </ul>  |
| Exogenous factors | <ul style="list-style-type: none"> <li>- pharmaceuticals</li> <li>- vital hypothermia/hyperthermia</li> </ul>   |

Imagen 3: Madea M, Doberentz E, Jackowski C. Vital reactions – An updated overview. Forensic Sci Int. 2019; 305:110029. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110029>

En definitiva, una magnífica revisión que insiste en la variabilidad entre los individuos y aún cuando se trate del mismo individuo será distinta en diferentes momentos de su vida, dependiendo de incontables factores. A tener en cuenta, sin duda.

- No obstante, se sigue trabajando con el empeño de resolver la cuestión. Veamos dos ejemplos más, que se centran en el análisis del humor acuoso y el vítreo<sup>20</sup>:

El primero (Butler et al.)<sup>21</sup>, se refiere a casos pediátricos. Valga como resumen este fragmento:

*“Assuming vitreous fluid as a standard for correlating postmortem chemistry to antemortem serum values, aqueous fluid may be a viable substitute for vitreous fluid when expected differences are considered. This would be of most use in suspected pediatric abuse cases where vitreous sampling is discouraged due to the possibility of artifactual changes such as iatrogenic vitreal and retinal hemorrhages or disruption introduced either by the needle itself or pressures changes secondary to fluid retrieval”*<sup>22</sup>.

<sup>20</sup> Traducción:

“Según Bernhard Knight una “reacción vital” (VR) es un fenómeno de dudosa validez, principalmente debido al hecho de que la muerte y el morir son un proceso y no un evento. Es más bien la prueba de que un sistema, órgano, tejido, célula o proceso metabólico específico todavía era funcional. Eso no prueba necesariamente que el individuo aún estuviera vivo, ya que es posible que ya haya ocurrido la muerte cerebral. Sin embargo, aparte de esto, las reacciones vitales se consideran una prueba de que su aparición depende en gran medida de las condiciones vitales.

La cuestión de si una lesión se produjo en vida o no es uno de los temas más importantes de la medicina forense. El término “reacción vital” describe efectos en, en o por el cuerpo principalmente después de un trauma y permite concluir que el trauma ocurrió durante la vida.”.

“El presente artículo de revisión tiene la intención de proporcionar una descripción categorizada de la realidad virtual relevante desde el punto de vista forense como apoyo para el trabajo de casos diario”.

<sup>21</sup> Butler D. et al. Aqueous Fluid as a Viable Substitute for Vitreous Fluid in Postmortem Chemistry Analysis. J Forensic Sci. March 2020; 65(2): 508-512. doi: 10.1111/1556-4029.

<sup>22</sup> Traducción:

“Asumiendo que el fluido vítreo es un estándar para correlacionar la química post mórtem con los valores séricos ante mórtem, el fluido acuoso puede ser un sustituto viable del fluido vítreo cuando se consideran las diferencias esperadas. Esto sería de gran utilidad en casos de sospecha de abuso pediátrico en los que se desaconseja la toma de muestras del vítreo debido a la posibilidad de cambios

Del segundo (Pigaiani et al.)<sup>23</sup>, proceden los textos que se encuentran seguidamente<sup>24</sup>:

*“...Consequently, the VH is of particular interest in biochemical investigation as the cessation of energy metabolism occurs at a lower rate in the eye than in other compartments”.*

*“Thanatochemistry literature reports many analytical methods for post-mortem endogenous compounds assay, in some cases even very different from each other for the same analyte”.*

*“Different analytical methods usually require different pre-analytical treatments that could lead to different results as previously discussed”.*

Con lo que:

*“The review confirms that VH post-mortem analysis is an important tool for forensic purposes, particularly endogenous compounds, although further researches are required”.*

Todo indica que, sin remedio, es necesario seguir trabajando.

- Un año más adelante, se publica una nueva revisión sobre los marcadores bioquímicos forenses apropiados para la evaluación del período agónico<sup>25</sup>. Permitan que vayamos directamente a las conclusiones, que exponen lo siguiente:

*“This review is focused on biochemical parameters useful for forensic purposes. Based on the emerged evidence, some of these biomarkers showed validity not only for diagnosis of death cause such as traumatic head injury and asphyxia but also for agonal period estimation. In fact, biomarkers in biological samples (blood, urine and cerebrospinal fluid) seem to be influenced by survival/agony time between the primary event and death”.*

*“The post-mortem quantitative interpretation of these biomarkers is more difficult due to the lack of cut-offs and ante-mortem data.*

*Despite the limitations, these results confirm the important role of thanatobiochemistry and analytical techniques applicable in Forensic Medicine, so further studies in this direction are desirable.*

*Starting from this evidence, the future direction is to focus the attention on ideal biochemical parameters. The ideal marker is not affected by analytical interferences due to post-mortal phenomena and the presence of unknown intrinsic factors at the time of death. For example, pre-existing pathologies could change the interpretation of the laboratory data (thyroid disease and post-mortem levels of thyroid hormones).*

*Moreover, the ideal marker for the estimation of agony should be reproducible for all types of death.*

*In this direction, it is interesting to increase the studies on the biomarkers that seem to show these characteristics, such as urinary L-FABP and 8-OHdG.*

*The study of these markers and others is desirable in order to obtain new objective laboratory parameters useful for forensic and justice purposes”<sup>26</sup>.*

---

*artificiales, como hemorragias vítreas y retinianas iatrogénicas o roturas introducidas por la propia aguja o cambios de presión secundarios a la extracción de líquidos”.*

<sup>23</sup> Pigaiani N. et al. Vitreous humor endogenous compounds analysis for post-mortem forensic investigation. *Forensic Sci Int.* 2020; 310: 110235. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110235>

<sup>24</sup> Traducción:

*“...En consecuencia, el VH es de particular interés en la investigación bioquímica ya que el cese del metabolismo energético ocurre a un ritmo menor en el ojo que en otros compartimentos”.*

*“La literatura de tanatoquímica informa muchos métodos analíticos para el ensayo de compuestos endógenos post-mortem, en algunos casos incluso muy diferentes entre sí para el mismo analito”.*

*“Los diferentes métodos analíticos generalmente requieren diferentes tratamientos preanalíticos que podrían conducir a diferentes resultados como se discutió anteriormente”.*

*“La revisión confirma que el análisis post-mortem de VH es una herramienta importante para fines forenses, particularmente compuestos endógenos, aunque se requieren más investigaciones”.*

<sup>25</sup> Rosato E. et al. Forensic Biochemical Markers to Evaluate the Agonal Period: A Literature Review. *Molecules* 2021; 26: 3259. <https://doi.org/10.3390/molecules26113259>

<sup>26</sup> Traducción:

*“Esta revisión se centra en los parámetros bioquímicos útiles para fines forenses. Con base en la evidencia surgida, algunos de estos biomarcadores mostraron validez no solo para el diagnóstico de la causa de muerte, como traumatismo craneoencefálico y asfixia,*

A. Castelló, E. Pascual

Ojalá tuviéramos esos parámetros bioquímicos ideales, pero de momento, no existen.

En cada individuo y en cada momento de su vida, la reacción es diferente. Lo dicho, inalcanzable.

- Sigamos con otra aportación de 2022, propuesta por el equipo del doctor Kuninaka, en este caso sobre otros posibles marcadores, concretamente la expresión génica de los macrófagos M1 y M2, durante la cicatrización de heridas en la piel en ratones <sup>27</sup>:

Veamos parte del texto:

*“The purpose of this study was to investigate macrophage infiltration and their phenotype during the healing process of skin wounds in mice and humans, and to examine the utility of M1 and M2 macrophages as markers for wound age determination”.*

*“These observations suggest that the M1/M2 ratio of > 1.0 would indicate a wound age of 1–7 days. Out of 11 wounds aged 1–5 days, five samples had the M1/M2 ratios of > 3.0. These observations propose that the M1/M2 ratios of 3.0 would indicate a wound age of 1–5 days as the forensic opinion. Moreover, the M1/M2 ratios of > 4.0 would show a wound age of 1–4 days. In summary, differences in the number of M1 and M2 macrophages in human skin wounds may provide useful information for the determination of wound age. Although examining a single marker alone does not provide a high degree of confidence and objectivity in determining wound age, evidence suggests that immunohistochemical detection of M1 and M2 macrophages in skin wounds can provide important information for skin wound age determination. Combining several markers is likely to provide sufficient sensitivity and specificity”<sup>28</sup>.*

- En el mismo año -2022- se publican algunos artículos sobre la ahorcadura o estrangulación vital o postvital.

Valga un par de ellos, como muestra:

Del primero (Maiese A. et al.)<sup>29</sup> destacamos los siguientes párrafos<sup>30</sup>:

*sino también para la estimación del período agónico. De hecho, los biomarcadores en muestras biológicas (sangre, orina y líquido cefalorraquídeo) parecen estar influenciados por el tiempo de supervivencia/agonía entre el evento primario y la muerte”.*

*“La interpretación cuantitativa post-mortem de estos biomarcadores es más difícil debido a la falta de cortes y datos ante-mortem. A pesar de las limitaciones, estos resultados confirman el importante papel de la tanatobioquímica y las técnicas analíticas aplicables en Medicina Legal, por lo que son deseables más estudios en esta dirección.*

*A partir de esta evidencia, la dirección futura es centrar la atención en los parámetros bioquímicos ideales. El marcador ideal no se ve afectado por interferencias analíticas debidas a fenómenos post-mortales y la presencia de factores intrínsecos desconocidos en el momento de la muerte. Por ejemplo, patologías preexistentes podrían cambiar la interpretación de los datos de laboratorio (enfermedad tiroidea y niveles post-mortem de hormonas tiroideas).*

*Además, el marcador ideal para la estimación de la agonía debería ser reproducible para todos los tipos de muerte.*

*En esta dirección, es interesante incrementar los estudios sobre los biomarcadores que parecen presentar estas características, como la L-FABP y la 8-OHdG urinarias.*

*El estudio de estos y otros marcadores es deseable para obtener nuevos parámetros objetivos de laboratorio útiles para fines forenses y de justicia”.*

<sup>27</sup> Kuninaka Y. et al. Macrophage polarity and wound age determination. Sci Rep 12, 20327 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24577-9>

<sup>28</sup> Traducción:

*“El propósito de este estudio fue investigar la infiltración de macrófagos y su fenotipo durante el proceso de cicatrización de heridas cutáneas en ratones y humanos, y examinar la utilidad de los macrófagos M1 y M2 como marcadores para la determinación de la edad de las heridas”.*

*“Estas observaciones proponen que las proporciones M1/M2 de 3,0 indicarían una edad de la herida de 1 a 5 días como dictamen forense. Además, las proporciones M1/M2 de > 4,0 mostrarían una herida con una edad de 1 a 4 días. En resumen, las diferencias en el número de macrófagos M1 y M2 en las heridas de la piel humana pueden proporcionar información útil para determinar la edad de la herida. Aunque examinar un solo marcador por sí solo no proporciona un alto grado de confianza y objetividad para determinar la edad de la herida, la evidencia sugiere que la detección inmunohistoquímica de macrófagos M1 y M2 en heridas cutáneas puede proporcionar información importante para determinar la edad de las heridas cutáneas. Es probable que la combinación de varios marcadores proporcione suficiente sensibilidad y especificidad”.*

<sup>29</sup> Maiese A. et al. An Overview on Actual Knowledge About Immunohistochemical and Molecular Features of Vitality, Focusing on the Growing Evidence and Analysis to Distinguish Between Suicidal and Simulated Hanging. Front. Med. 2022; 8: 793539. doi: 10.3389/fmed.2021.793539

<sup>30</sup> Traducción:

*“Uno de los temas más desafiantes en medicina forense es responder a la pregunta de si un ahorcamiento fue perpetrado por suicidio o es un ahorcamiento simulado (cuando un cadáver se suspende después de la muerte).*

*“One of the most challenging issues in forensic medicine is to answer the question of whether a hanging was perpetrated by suicide or is a simulated hanging (when a dead body is suspended after death).*

*Although most hangings are suicidal, homicidal hanging can rarely occur. Typically, when a victim is conscious, a forensic pathologist will inevitably find signs of resistance on the dead body, such as bruises or signs of binding the arms, wrists, or legs.*

*When such external signs are absent, and crime scene investigation is unsuccessful (e.g., no signs of suicidal ideation), it is almost impossible to distinguish whether the dead body was suspended or not. Therefore, it is pivotal to determine whether the ligature mark was produced during life or not, thus analyzing vital reactions. The term “vital reaction” refers to effects in, at, or by the body following trauma and allows the assumption that the trauma occurred during life.*

*“Differential diagnosis between such events should be built on the research and demonstration of vital reactions on ligature marks, analyzing both cutaneous and inner neck structures.*

*The aim of this literature review is to provide an update on relevant vital signs of ligature marks, focusing on immunohistochemically and molecular pathology detectable vital reactions. The present review article also intends to provide a differentiation between ligature mark features and surrounding non-injured skin”.*

*“Estimating the vitality of lesions typically associated with death by hanging is nowadays based on the study of circumstantial data, crime scene investigation, the forensic study of the deceased along with the histopathological analysis of ligature marks”.*

*“Although the present study does not offer an alternative diagnostic process in differentiation between suicidal hanging and simulated hanging, a modification of the actual protocol on ligature mark vitality study is proposed: along with crime scene investigation, external examination of the body, classical histology sampling, an immunohistochemical analysis should be added as routine use in the diagnostic process (both as a first-line test, and as a confirmation one), as demonstrated by the great reliability of identified markers.*

---

*Aunque la mayoría de los ahorcamientos son suicidas, rara vez puede ocurrir un ahorcamiento homicida. Por lo general, cuando una víctima está consciente, un patólogo forense inevitablemente encontrará signos de resistencia en el cadáver, como hematomas o signos de vendar los brazos, las muñecas o las piernas.*

*Cuando tales signos externos están ausentes y la investigación de la escena del crimen no tiene éxito (p. ej., no hay signos de ideación suicida), es casi imposible distinguir si el cadáver estaba suspendido o no. Por lo tanto, es fundamental determinar si la marca de la ligadura se produjo durante la vida o no, analizando así las reacciones vitales. El término “reacción vital” se refiere a los efectos en, en o por el cuerpo después del trauma y permite suponer que el trauma ocurrió durante la vida”.*

*“El diagnóstico diferencial entre tales eventos debe basarse en la investigación y demostración de las reacciones vitales en las marcas de ligadura, analizando las estructuras tanto cutáneas como internas del cuello.*

*El objetivo de esta revisión de la literatura es proporcionar una actualización sobre los signos vitales relevantes de las marcas de ligaduras, centrándose en las reacciones vitales detectables inmunohistoquímicamente y por patología molecular. El presente artículo de revisión también pretende proporcionar una diferenciación entre las características de la marca de ligadura y la piel circundante no lesionada”.*

*“La estimación de la vitalidad de las lesiones típicamente asociadas a la muerte por ahorcamiento se basa hoy en día en el estudio de datos circunstanciales, la investigación del lugar del crimen, el estudio forense de los fallecidos junto con el análisis histopatológico de las marcas de ligadura”.*

*“Aunque el presente estudio no ofrece un proceso diagnóstico alternativo en la diferenciación entre ahorcamiento suicida y ahorcamiento simulado, se propone una modificación del protocolo actual sobre el estudio de la vitalidad de la marca de ligadura: junto con la investigación de la escena del crimen, examen externo del cuerpo, clásico muestreo histológico, se debe agregar un análisis inmunohistoquímico como uso rutinario en el proceso de diagnóstico (tanto como prueba de primera línea como de confirmación), como lo demuestra la gran confiabilidad de los marcadores identificados.*

*Todos los marcadores moleculares presentados, aunque prometedores, necesitan una validación más sólida con estudios estandarizados y multicéntricos, realizados en poblaciones más grandes. También es preferible realizar una confrontación entre casos de ahorcamiento simulado y muestras de las mismas características.*

*La investigación forense en ahorcamiento debe contar con marcadores modernos y validados, incluso hasta la combinación de diferentes marcadores, para garantizar una alta confiabilidad en los juicios judiciales”.*

*All presented molecular markers, even though promising, need a stronger validation with standardized, multi-centric studies, conducted on larger populations. It is also preferable to perform a confrontation between cases of simulated hanging and same-features samples.*

*The forensic investigation in hanging should rely on modern and validated markers, even to the combination of different markers, to guarantee high reliability in judicial trials”.*

Lo dicho, se avanza pero aunque los resultados parecen en principio, ser prometedores, hace falta muchos más tiempo y esfuerzo, incluyendo más población y variables.

Y del segundo (Mansueto et al)<sup>31</sup>, extraemos los siguientes textos:

*“The determination of a vital reaction of human skin wounds is still a challenge for forensic pathologists. In forensic medicine, the term “vital reaction” describes the complex physiological events that occur at a systemic and local level when an extraneous force or noxa came into contact with a living organism. Macroscopical and microscopical reactions of body tissues can be useful signs for differentiating antemortem and postmortem injuries and to determine whether an injury was sustained during life or not. Unfortunately, although extravasations of red blood cells and hemoglobin into the soft tissues surrounding the wounds are commonly considered a local reaction of vitality, caution has been recommended in the interpretation of such findings alone as vital signs. Sometimes, even the gross hemorrhages, along with systemic vital reactions like cyanosis, oedema, or vascular congestion, cannot be identified, especially in badly decomposed or exhumed bodies”.*

*“One vitality marker alone is often of limited value, since it may be partly explained by resuscitation attempts or events that occurred during the supra-vital period”.*

*“Experts must be aware that several local and exogenous factors can affect the time course and appearance of local vital reactions after skin damage, among which are the manner and intensity of trauma and severity and extension of the alteration, temperature, pharmaceuticals, etc”.*

*“The research was performed using PubMed, Web of Science, and Scopus with the following keywords: Ligature Mark and Hanging, Ligature Mark and Strangulation, OR Furrow and Hanging OR (noose mark and hanging), Ligature Mark and histology and immunohistochemistry, which were searched in all fields to recognize relevant research available up to 6 October 2021. The search and review of the literature was carried out by two authors independently, and the results were then compared”.*

*“The results of this systematic review show that only a little research has been carried out on a large series of ligature marks; validated immunohistochemical markers do not yet exist, and the histological morphology of the skin and other organs sampled at autopsy, along with the circumstances of the death investigation, are still crucial for the diagnosis of vitality and age of a skin wound”.*

*“The assessment of the vitality and age of a ligature mark is still a challenging topic in forensic pathology. One immunohistochemical biomarker alone is of limited value, as it would be studied according to all systemic vital reactions, like those of the circulatory and respiratory systems, and in the light of all factors that can affect the reliability of immunohistochemistry”.*

*“In the future, immunohistochemical markers could be of use to basic diagnosis, and we look forward to new tools to determine whether a human skin wound has been sustained during life or not, especially in cases where the mechanism and mode of death are controversial.*

<sup>31</sup> Mansueto G. et al. A Clue on the Skin: A Systematic Review on Immunohistochemical Analyses of the Ligature Mark. Int. J. Environ. Res. Public Health 2022; 19(4), 2035. <https://doi.org/10.3390/ijerph19042035>

*Validation protocols to promote consistency and comparability among immunohistochemical markers and to improve their reliability in routine diagnostics of vital reaction are still needed*<sup>32</sup>.

- Para terminar este breve recorrido, prestemos atención a otro artículo de revisión, publicado en 2023<sup>33</sup>, (por Pennisi G. et al.) que llama la atención por su discusión de resultados:

*“Although the progress in estimating the age of a wound that has been made in recent years is evident, few markers seem to be sufficiently sensitive and/or specific, as well as easily identifiable, for daily use in forensic pathology. The most promising markers analyzed in our review were fibronectin and p-selectin; unfortunately, there are still no data in the literature defining standard markers for the determination of wound vitality. From the analysis of Table 2, the studies included in this review present various critical issues such as a considerable variability of lesions, a limited number of cases, even more heterogeneous from each other, and small positive and negative control numbers. Indeed, no markers have yet been definitively validated for forensic practice”.*

Y sus conclusiones:

*“Numerous studies are available in the literature on the assessment of the vitality and age of wounds and numerous markers have been tested over the years. To date, several techniques can be applied to forensic samples to estimate wound vitality. Through our review, we were able to highlight the most promising markers, such as fibronectin, p-selectin, and some inflammatory molecules, although further studies are still needed for them to be considered reliable, suggesting a larger and more varied number of cases in order to obtain results that can be more consistent. It would perhaps be useful to standardize the protocols of investigations on similar wounds with varying intervals of time in order to have more indicative results.*

---

<sup>32</sup> Traducción:

*“La determinación de una reacción vital de las heridas de la piel humana sigue siendo un desafío para los patólogos forenses. En medicina forense, el término “reacción vital” describe los eventos fisiológicos complejos que ocurren a nivel sistémico y local cuando una fuerza extraña o noxa entra en contacto con un organismo vivo. Las reacciones macroscópicas y microscópicas de los tejidos corporales pueden ser signos útiles para diferenciar las lesiones antemortem y postmortem y para determinar si una lesión se produjo durante la vida o no. Desafortunadamente, aunque las extravasaciones de glóbulos rojos y hemoglobina en los tejidos blandos que rodean las heridas se consideran comúnmente una reacción local de vitalidad, se recomienda precaución en la interpretación de tales hallazgos solos como signos vitales. A veces, incluso las hemorragias graves, junto con reacciones vitales sistémicas como cianosis, edema o congestión vascular, no pueden identificarse, especialmente en cuerpos muy descompuestos o exhumados”.*

*“Un marcador de vitalidad por sí solo suele tener un valor limitado, ya que puede explicarse en parte por los intentos de resucitación o los eventos que ocurrieron durante el período supravital”.*

*“Los expertos deben ser conscientes de que varios factores locales y exógenos pueden afectar el curso temporal y la aparición de reacciones vitales locales después del daño de la piel, entre los que se encuentran la forma e intensidad del traumatismo y la gravedad y extensión de la alteración, temperatura, fármacos, etc”.*

*“La investigación se realizó utilizando PubMed, Web of Science y Scopus con las siguientes palabras clave: Ligation Mark and Hanging, Ligation Mark and Strangulation, OR Surco y Hanging OR (noose mark and Hanging), Ligation Mark and histology and immunohistochemistry, las cuales fueron buscadas en todos los campos para reconocer la investigación relevante disponible hasta el 6 de octubre de 2021. La búsqueda y revisión de la literatura fue realizada por dos autores de forma independiente, y luego se compararon los resultados”.*

*“Los resultados de esta revisión sistemática muestran que (1) solo se ha llevado a cabo una pequeña investigación sobre una gran serie de marcas de ligaduras; (2) aún no existen marcadores inmunohistoquímicos validados, y (3) la morfología histológica de la piel y otros órganos muestreados en la autopsia, junto con las circunstancias de la investigación de la muerte, siguen siendo cruciales para el diagnóstico de vitalidad y edad de una piel herida”.*

*“La evaluación de la vitalidad y la edad de una marca de ligadura sigue siendo un tema desafiante en la patología forense. Un biomarcador inmunohistoquímico por sí solo tiene un valor limitado, ya que se estudiaría de acuerdo con todas las reacciones vitales sistémicas, como las de los sistemas circulatorio y respiratorio, ya la luz de todos los factores que pueden afectar la confiabilidad de la inmunohistoquímica”.*

*“En el futuro, los marcadores inmunohistoquímicos podrían ser útiles para el diagnóstico básico, y esperamos nuevas herramientas para determinar si una herida en la piel humana se ha mantenido durante la vida o no, especialmente en los casos en que el mecanismo y el modo de muerte son controvertidos.*

*Todavía se necesitan protocolos de validación para promover la consistencia y la comparabilidad entre los marcadores inmunohistoquímicos y para mejorar su confiabilidad en los diagnósticos de rutina de reacciones vitales”.*

<sup>33</sup> Pennisi G. et al. Vitality markers in forensic investigations: a literature review. Forensic Sci Med Pathol. 2023 Mar; 19(1): 103-116. doi: 10.1007/s12024-022-00551-9.

*More in-depth investigations about the use of miRNAs and combinations of multiple markers would lead to an increase in sensitivity and specificity sufficient to validate systems or models for the determination of wound vitality in forensic practice*"<sup>34</sup>.

Como resumen del texto anterior, se puede decir lo siguiente:

1. El uso de marcadores inmunohistoquímicos para la detección de la vitalidad de la herida y el intervalo de muerte es controvertido en la práctica forense.
2. Aunque algunos marcadores, como la fibronectina, la p-selectina y algunas moléculas inflamatorias, son más confiables que otros, aún no pueden usarse como marcadores de certeza.
3. Una revisión de la literatura sobre la evidencia para el examen post-mortem de heridas destaca cómo los miRNA combinados con el uso de otros marcadores podrían aumentar la sensibilidad y especificidad de la edad de las heridas.
4. Aún no se ha propuesto un protocolo de diagnóstico post-mortem uniforme para identificar la vitalidad de la herida; es fundamental establecer criterios diagnósticos estandarizados.

Nos queda tan solo finalizar, con las:

## CONCLUSIONES

Es evidente el gran esfuerzo realizado para conseguir eliminar o al menos reducir el periodo de incertidumbre. No obstante y a pesar de los medios y tecnología actuales, parece que aún no alcanzamos la meta. Gabriel Tourdes ha resistido el paso del tiempo y sigue vigente. Y es que, como en todo proceso biológico, para cada individuo y en cada momento de su vida, la reacción es diferente.

Lo dicho, al menos de momento y en nuestra opinión, un propósito inalcanzable.

---

<sup>34</sup> Traducción:

*“Aunque el progreso en la estimación de la edad de una herida que se ha producido en los últimos años es evidente, pocos marcadores parecen suficientemente sensibles y/o específicos, así como fácilmente identificables, para el uso diario en patología forense. Los marcadores más prometedores analizados en nuestra revisión fueron la fibronectina y la p-selectina; desafortunadamente, todavía no hay datos en la literatura que definan marcadores estándar para la determinación de la vitalidad de la herida. Del análisis de la Tabla 2, los estudios incluidos en esta revisión presentan varios aspectos críticos como una considerable variabilidad de lesiones, un número limitado de casos, incluso más heterogéneos entre sí, y pequeños números de controles positivos y negativos. De hecho, todavía no se ha validado definitivamente ningún marcador para la práctica forense”.*

*“Numerosos estudios están disponibles en la literatura sobre la evaluación de la vitalidad y la edad de las heridas y se han probado numerosos marcadores a lo largo de los años. Hasta la fecha, se pueden aplicar varias técnicas a muestras forenses para estimar la vitalidad de la herida. A través de nuestra revisión, pudimos destacar los marcadores más prometedores, como la fibronectina, la p-selectina y algunas moléculas inflamatorias, aunque aún se necesitan más estudios para considerarlos confiables, lo que sugiere un número mayor y más variado de casos en para obtener resultados que puedan ser más consistentes. Quizás sería útil estandarizar los protocolos de investigaciones sobre heridas similares con intervalos de tiempo variables para tener resultados más indicativos. Investigaciones más profundas sobre el uso de miRNAs y combinaciones de múltiples marcadores conducirían a un aumento en la sensibilidad y especificidad suficiente para validar sistemas o modelos para la determinación de la vitalidad de heridas en la práctica forense”.*