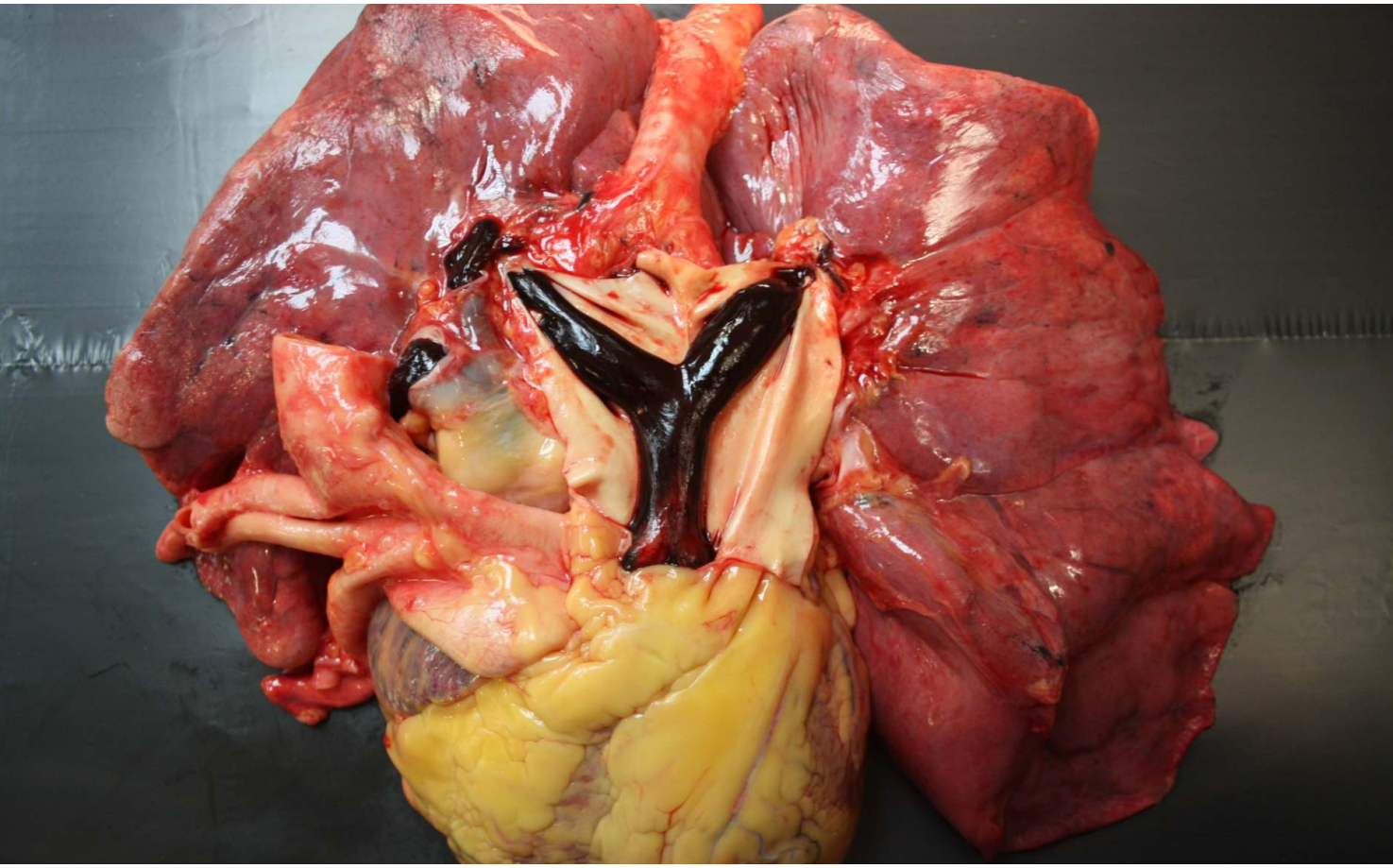
BOLETIN GALEGO DE Nº 33

MEDICINA LEGAL E FORENSE

ASOCIACION GALEGA DE MEDICOS FORENSES Julio 2023



1. EDITORIAL.
2. ESTIMACIÓN DE LA TALLA A PARTIR DE LA LONGITUD DE LA HUELLA DEL PIE. Rodes Lloret F., Lirola Fornieles A.
3. ESTADO ACTUAL DE LOS SISTEMAS MÉDICO-LEGALES Y FORENSES ENCARGADOS DE LA INVESTIGACIÓN DE MUERTES POTENCIALMENTE ILÍCITAS. Tidball Binz M.
4. SETAS CON AMATOXINAS EN GALICIA: PERSPECTIVA TOXICOLÓGICA, CLÍNICA Y MÉDICO-LEGAL. Serrulla Blanco M.
5. DIFERENTES METODOLOGÍAS DE UTILIDAD EN EL CAMPO DE LA GENÉTICA FORENSE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FLUIDO SEMINAL. Muñiz Mcaleer C., Lareu Huidobro M.V., de la Puente Vila M.C., Remedios Tato S., Ramos Blanco A.
6. ¿NIÑO ZARANDEADO O LESIONES ACCIDENTALES?. Botet Gómez R., Sanchez Botet T., Valverde-Grimaldi Galván A., López García P.L., Sánchez Ugena F.
7. MUERTE POR PERITONITIS SECUNDARIA A ESTRANGULACIÓN DEL PENE. García Pérez J.L., López Calvo A.
8. CLAVES PARA DIAGNOSTICAR ADECUADAMENTE EL TROMBOEMBOLISMO PULMONAR (TEP) EN LA AUTOPSIA. Lucena J., Prieto-Cuadra D.

El BOLETÍN GALEGO DE MEDICINA LEGAL E FORENSE es una publicación de la ASOCIACIÓN GALEGA DE MÉDICOS FORENSES constituida en 1993 y cuya Junta Directiva actual está formada por Dn Fernando Serrulla Rech como Presidente, Dn José Luis Cascallana como Vicepresidente, Dn José Antonio Sampayo Moure como Secretario, Dña Juana López Gómez como Tesorera y como vocales Rita Torres Pérez, Fernando Rodriguez Esmores, Juan Gonzalez Fontán y Tamara Ramos Paradelo. La A.G.M.F. se halla registrada en el Registro Nacional de Asociaciones con el número 118.666 y registrada en el Registro Autonómico de Asociaciones Profesionales. La A.G.M.F. tiene su sede actual en la Unidad de Antropología Forense del Instituto de Medicina Legal de Galicia. Hospital de Verín, 32600 Verín, Ourense.
DEPOSITO LEGAL OR-86/1995.
ISSN 1136-078X.
Revista Open Access.
http://www.agmf.es/boletin.html
Título Clave: Boletín Galego de Medicina Legal e Forense.
Título abreviado: Bol. Galego med. leg. forense.

Revista indexada en REBID https://www.redib.org/

REDIB | Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico

Google Scholar

El presente número del BOLETÍN GALEGO DE MEDICINA LEGAL E FORENSE es el número 33 y contiene información anterior al 31 de junio de 2023.

Las comunicaciones con el BOLETÍN se dirigirán a la atención del Director desde la página web de la Asociación Galega de Médicos Forense.

EL BOLETÍN GALEGO DE MEDICINA LEGAL E FORENSE SE PUEDE DESCARGAR GRATUITAMENTE EN LA PÁGINA WEB DE LA ASOCIACIÓN:
www.agmf.es

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES: Se descargará en la página web de la A.G.M.F.

Fotografía de portada: Daniel Prieto Cuadra.

XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE PRESIDENCIA, ADMINISTRACIÓNS PÚBLICAS E XUSTIZA

boletin galego de
medicina legal e forense

ASOCIACION GALEGA DE MEDICOS FORENSES

DIRECTOR
Dn Fernando Serrulla Rech

COMITÉ EDITORIAL
Dn. Enrique Dorado Fernández
Dn. José Antonio Sampayo Moure
Dn. José Luis Cascallana Álvarez
Dña. Iria del Río Tajes
Dña. Juana López Gómez
Dña. Ana Losada Gil
Dn. Alberto Fernández Liste
Dn. Máximo Lucio Rodríguez Vázquez
Vanesa Pérez González
Dña. Antía Diéguez Quintairos

COMITÉ CIENTÍFICO
Excmo. Sr.Dn. Fernando Alañón Olmedo (Magistrado T.S.J. Galicia)
Dr. Dn. Ángel Carracedo Álvarez (Universidad Santiago de Compostela)
Dr. Dn. Juan Bautista Martí Lloret (Universidad Miguel Hernández)
Dr. Dn. Francisco Etxeberría Gabilondo (Universidad del Pais Vasco)
Dr. Dn. José Antonio Sánchez Sánchez (Universidad Complutense de Madrid)
Dr. Dn. Antonio Piga Rivero (Universidad de Alcalá de Henares)
Dr. Dn. José Luis Prieto Carrero (Médico Forense)
Dra. Dña. Beatriz Aguilera Tapia (Instituto Nacional de Toxicología y CCFF)
Dr. Dn. Benito A. López de Abajo Rodríguez (Médico Forense)
Dra. Dña. Mª Paz Suarez Mier (Instituto Nacional de Toxicología y CCFF)
Dra. Dña. Mª Soledad Sánchez de León (Instituto Nacional de Toxicología y CCFF)
Dr. Dn. Fernando Rodes Lloret (IML CF de Alicante)
Dra. Dña. Mar Pastor Bravo (IML CF de Alicante)
Dr. Dn. Alberto Fernández Liste (IMELGA Santiago de Compostela)
Dra. Dña. Belén Campos Casal (IMELGA Vigo)
Dr. Dn. Víctor Dios García (IMELGA Ferrol)
Dra. Dña. Berta Rodríguez Martínez (IMELGA A Coruña)
Dr. Dn. Ignasi Galtés Vicente (IML y CCFF de Catalunya)

índice

1. *EDITORIAL. . . . . 71.*

2. *ESTIMACIÓN DE LA TALLA A PARTIR DE LA LONGITUD DE LA HUELLA DEL PIE. Rodes Lloret F., Lirola Fornieles A. 9*

3. *ESTADO ACTUAL DE LOS SISTEMAS MÉDICO-LEGALES Y FORENSES ENCARGADOS DE LA INVESTIGACIÓN DE MUERTES POTENCIALMENTE ILÍCITAS. Tidball Binz M. 21*

4. *SETAS CON AMATOXINAS EN GALICIA: PERSPECTIVA TOXICOLÓGICA, CLÍNICA Y MÉDICO-LEGAL. Serrulla Blanco M. 41*

5. *DIFERENTES METODOLOGÍAS DE UTILIDAD EN EL CAMPO DE LA GENÉTICA FORENSE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FLUIDO SEMINAL. Muñiz Mcaleer C., Lareu Huidobro M.V., de la Puente Vila M.C., Remedios Tato S., Ramos Blanco A. 63*

6. *¿NIÑO ZARANDEADO O LESIONES ACCIDENTALES?. Botet Gómez R., Sanchez Botet T., Valverde-Grimaldi Galván A., López García P.L., Sánchez Ugena F. 79*

7. *MUERTE POR PERITONITIS SECUNDARIA A ESTRANGULACIÓN DEL PENE. García Pérez J.L., López Calvo A. 87*

8. *CLAVES PARA DIAGNOSTICAR ADECUADAMENTE EL TROMBOEMBOLISMO PULMONAR (TEP) EN LA AUTOPSIA. Lucena J., Prieto-Cuadra D. 95*

Aprendiendo siempre.

Esta revista no nació con ninguna pretensión relacionada con los índices de impacto. Esta revista es sencillamente una forma más de aprender a ejercer la Medicina Forense. Un constante aprendizaje que no termina nunca. Aprender de la experiencia o investigación de otrxs y también aprender a escribir artículos científicos en un marco sin altos niveles de exigencia pero gobernados por el razonamiento científico y la sana crítica.

En relación con estas ideas, que en los últimos meses hemos recibido varias comunicaciones de diversos compañeros dudando de los diagnósticos de Tromboembolismo Pulmonar (TEP) que publicamos en los números 27 y 31. Hemos pensado que la mejor forma de solucionarlo es encargar a un experto un artículo sobre el diagnóstico del TEP, y así lo hemos hecho. Propusimos al Dr Joaquín Lucena que redactara un trabajo sobre este tema. Creemos que el interesante trabajo de Joaquín Lucena y Daniel Prieto nos ayudará a todxs a diferenciar un coágulo posmortem de un verdadero TEP. Confiamos que lxs autorxs de los trabajos aludidos no se molesten y que tengamos todxs en cuenta que los errores son una de las mejores herramientas de aprendizaje que tenemos. Siempre y cuando seamos capaces de reconocerlos y asumirlos.

Pero en esta revista vamos a aprender muchas más cosas incluso de estudiantes que acaban de terminar su grado en Medicina o en Criminología. En este número dedicamos 3 artículos a Trabajos Fin de Grado y de todos aprenderemos cosas interesantes: el importante papel de la Criminalística que el Médico Forense actual apenas atiende, una brillante actualización de las intoxicaciones por amatoxinas o las nuevas técnicas de detección de semen humano. Todo actual y muy interesante, incluso para nuestro día a día.

No podían faltar en éste número la presentación de casos que en este número son dos realmente espectaculares y de gran interés.

Por último queremos destacar el trabajo del Relator Especial de la ONU sobre ejecuciones extrajudiciales sumarias o arbitrarias. Se trata de un informe oficial publicado por Naciones Unidas en inglés, pero adaptado para nuestra revista en español. Es un interesante trabajo en el que el Relator se ha ocupado de valorar en un gran número de países como afrontan y aplican los diversos sistemas medico legales el Protocolo Minnesota. Recomendamos su detenida lectura y sobre todo las reflexiones aportadas que inciden directamente en nuestra profesión como peritos públicos garantes de los Derechos Humanos.

Gracias a todxs lxs autorxs por su aportación. Confiamos que todo el contenido sea realmente útil para nuestro trabajo ejerciendo una medicina forense de mayor calidad cada día.

Fernando Serrulla Rech.

ESTIMACIÓN DE LA TALLA A PARTIR DE LA LONGITUD DE LA HUELLA DEL PIE.

ESTIMATION OF THE SIZE FROM THE LENGTH OF THE FOOTPRINT OF THE FOOT.

RODES LLORET F.[1,2], LIROLA FORNIELES A.[3,4]

RESUMEN.
El hallazgo de una huella plantar humana en el lugar donde se ha cometido un delito tiene un alto valor policial y médico forense, no solo identificativo a través de los dibujos que dejan las crestas papilares de la planta del pie, sino que además puede permitir estimar la talla del autor de esta. Se presenta un estudio sobre 50 individuos españoles, caucasoides, en los que a partir de la longitud de sus huellas plantares se han obtenido ecuaciones de regresión para estimar su talla. Se han elaborado ecuaciones de regresión para hombres, mujeres y ambos sexos.

PALABRAS CLAVE: HUELLA PLANTAR, PELMATOGRAMA, TALLA, MEDICINA FORENSE.

ABSTRACT.
The discovery of a human footprint in the place where a crime has been committed has a high police and forensic medical value, not only identifying through the drawings left by the papillary ridges on the sole of the foot, but also can allow estimating the size of the author of this. A study on 50 Spanish, caucasoid individuals is presented, in which regression equations have been obtained from the length of their footprints to estimate their size. Regression equations have been developed for men, women and both sexes.

KEY WORDS: FOOTPRINT, PELMATOGRAM, HEIGHT, FORENSIC MEDICINE.

CONTACTO: Fernando Rodes Lloret. Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Alicante Avda Aguilera nº 53 Palacio de Justicia de Benalúa 0307 Alicante. España. E mail: fernando.rodes@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN.

La pelmatoscopia (del griego *pelma*, planta del pie y *skopein*, observar, examinar) es la rama de la lofoscopia que estudia los dibujos formados por las crestas papilares de las plantas de los pies, siendo el pelmatograma la impresión de la huella plantar (1).

1.1. BREVE HISTORIA DE LA PELMATOSCOPIA.

La irrupción de la dactiloscopia hizo desaparecer el sistema antropométrico de Bertillon, surgiendo a partir de ese momento numerosos estudios lofoscópicos, entre ellos la pelmatoscopia. Wilder y Wentworth, en 1918 recogen su estudio en su libro “personal identification”. En 1930 Jerlow escribe sobre esta ciencia. Lecha-Marzo describe en 1915 la variabilidad existente entre las huellas plantares por la diversidad de sus dibujos. Urquijo publica su libro Pelmatoscopia en 1944 (1).

1.2. VALOR CRIMINALÍSTICO DE LA PELMATOSCOPIA.

Se trata de una huella infrecuente ya que el autor de un delito no suele actuar descalzo, pero si así ocurriera y quedara algún vestigio de esta, total o parcial, se podría realizar su cotejo con los de un posible sospechoso.

Hay que señalar que una limitación importante para este tipo de investigaciones es la inexistencia de un archivo pelmatoscópico.

Las huellas plantares recogidas en la escena del crimen pueden proporcionar información valiosa sobre el autor de estas, como su estatura, forma

1. Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Alicante.
2. Universidad de Alicante.
3. Graduada en Criminología. Universidad de Granada.
4. Máster Universitario en Investigación Criminal y Ciencias Forenses. Universidad de Alicante.

de caminar y posibles deformidades físicas (2).

Además de las propias huellas de los pies, las impresiones que dejan los calzados en el lugar del delito también son muy importantes ya que pueden proporcionar información valiosa a los investigadores sobre la clase y características del calzado, como su forma, tamaño, dimensiones, así como posibles signos de desgaste o rasgaduras que puedan coincidir con el calzado del sospechoso y ayudar a identificar al delincuente durante la investigación (3)

Las pruebas de huellas de pisadas y calzado recopiladas en el lugar del delito ofrecen información sobre el número de autores, sus actividades y movimientos durante el delito, la dirección y velocidad de sus desplazamientos, entre otros datos (2).

La comparación de las características de las huellas de los pies encontradas en una escena del crimen con las de un sospechoso puede ser una técnica efectiva para la identificación y la resolución de casos criminales (4).

1.3. EL PELMATOGRAMA (FIGURA 1).

Las huellas plantares son las marcas o impresiones que deja el pie al apoyarse sobre una superficie. Estas huellas pueden revelar información valiosa, como el tamaño y la forma del pie, así como la distribución del peso y la manera en que camina una persona. Las huellas plantares son utilizadas en diversas disciplinas, como la medicina forense, la podología y la biomecánica, para identificar individuos, analizar problemas del pie y evaluar el patrón de marcha.

Estas huellas al igual que las de los dedos de las manos forman parte de la disciplina conocida como lofoscopia o dermatoglifia, se desarrollan durante el cuarto mes de gestación y representan un registro único e inalterable de un individuo en forma de crestas en los dedos de los pies, las plantas de los pies, los dedos de las manos y las palmas de las manos (5).

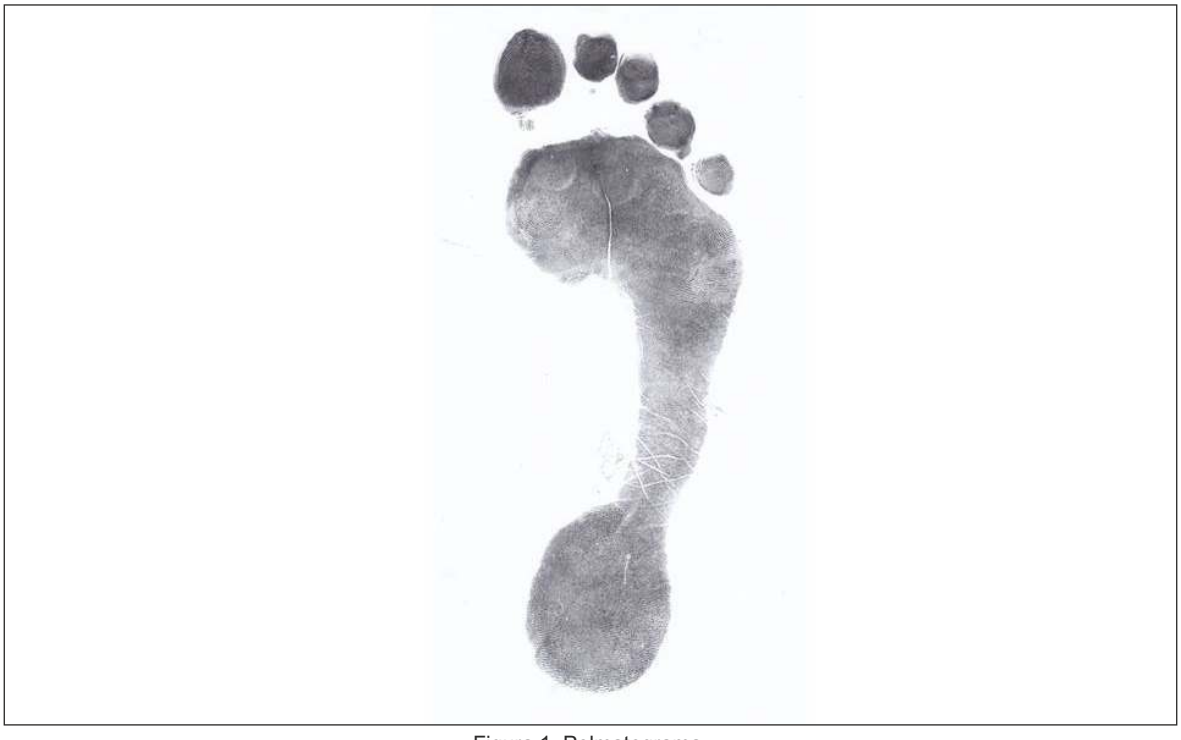


Figura 1. Pelmatograma.

1.4. LA TALLA O ESTATURA.

Según Parekh y col la talla es uno de los parámetros importantes para establecer la identidad de una persona (6).

Se entiende por talla o estatura, la distancia entre el suelo y el vértex craneal con el individuo en bipedestación y la cabeza en el plano de Frankfort.

El plano de Frankfort es la orientación anatómica estándar y de medida en el cráneo establecida en el congreso de antropología celebrado en esa ciudad en 1877 y se define como un plano horizontal que comprende los dos *porion* (punto superior en el borde del meato auditivo) y el *orbital* (punto más bajo en el borde inferior de la órbita) izquierdo. En las personas el *porion* corresponde al punto superior del *trago*.

Son numerosos los investigadores que han trabajado en la estimación de la talla a partir de la longitud de huesos largos, desarrollando ecuaciones regresivas y tablas de consulta (7).

Sin embargo, se ha prestado poca atención a la medición del pie y de las huellas plantares con este propósito.

1.5. RELACIÓN ENTRE LONGITUD DEL PIE Y TALLA.

Cheng y col (8) confirmaron en un estudio realizado en China, la relación existente entre la talla y la longitud del pie de una persona.

Robbins (9) afirma que es posible determinar la talla y el sexo de un individuo a partir de la longitud su pie resaltando la importancia que esto tiene en aquellos accidentes en los que los pies suelen quedar intactos gracias al calzado que los protege.

Rutishauser (10) fue el primero en demostrar que la fiabilidad de la predicción de la talla a partir de la longitud del pie era tan alta como la de los huesos largos.

Las primeras investigaciones publicadas sobre el uso de las huellas plantares en casos forenses proceden de la India, debido al gran número de población que no lleva calzado (11). Krishnan (12) realiza un estudio sobre la estimación de la talla a partir de las dimensiones de la huella y el contorno del pie en el norte de la India, y afirma que existe una correlación entre la talla y la longitud del pie.

Neves y col (13) observaron que las huellas que se creaban al correr resultaban más grandes que las huellas estáticas pero más pequeñas que las producidas al caminar.

Howsam y col (14) llevaron a cabo investigaciones sobre las medidas obtenidas de las huellas de pies descalzos y las producidas al caminar y al saltar, encontrando diferencias en cuanto a la longitud y a la anchura de las huellas cuando el estado -dinámico o estático- variaba.

A pesar de la escasez de estudios de medición de manos y pies para la estimación de la talla, estos indican que no hay variaciones significantes para todas las mediciones en ambos sexos.

Por otro lado, la decisión de medir el pie derecho, el izquierdo o ambos es una cuestión técnica que se ha respondido de forma diversa en los estudios realizados. Algunos autores han medido sólo el pie derecho, otros únicamente el izquierdo y otros ambos.

Los antropometristas tradicionales, como Hrdlika y Oliver (1960), están a favor de medir únicamente el pie izquierdo debido a la “Convención de Ginebra” de 1912 y sus intentos por establecer medidas antropométricas estandarizadas (15).

Sin embargo, hay muchos estudios que no han encontrado diferencias significativas entre el número de personas cuyo pie derecho era más largo que el izquierdo y viceversa.

Estudios realizados por Das y col (11) y Robbins LM (9) entre otros, no han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los pies izquierdos y derechos.

Klementa y col (16) examinaron la longitud de los pies de más de 3.500 hombres y mujeres, no encontrando diferencias en las mujeres y una diferencia entre el pie izquierdo y el derecho en los hombres de 1 mm, que se consideró insignificante.

Por otro lado, en un estudio de unos 6.800 clientes de zapaterías de EE.UU, Rossi (17) descubrió que el pie más largo está "'aproximadamente dividido a partes iguales entre izquierdo y derecho". Asimismo, Robbins (9) tampoco encontró una asimetría bilateral significativa en varias medidas de los pies de una muestra estadounidense.

De estos estudios se puede concluir que ambos pies pueden ser usados para la estimación de la talla.

1.6. RELACIÓN ENTRE LONGITUD DEL PIE Y SEXO.

Walia y col (18) estudiaron las dimensiones de las huellas plantares de 200 hombres y 200 mujeres entre 21 y 25 años, concluyendo que la longitud media de la huella del pie de los hombres es mayor que la de las mujeres.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

El presente estudio tiene como objetivo determinar si existe relación entre la longitud de la huella plantar y la talla.

En caso afirmativo, se pretende desarrollar una ecuación de regresión que permita estimar la talla de un individuo a partir de la longitud de sus huellas plantares.

3. MATERIAL Y MÉTODO.

3.1. MATERIAL.

Se han obtenido 100 huellas plantares de 50 individuos (50 pies izquierdos y 50 pies derechos), 18 hombres y 32 mujeres, de edades comprendidas entre 20 y 68 años. Todos son de origen español y caucasoides.

Se han excluido a aquellos sujetos que presentaban algún tipo de anomalía anatómica o deformidad en los pies.

Previamente se informó a los participantes del objetivo del trabajo y se obtuvo el consentimiento de cada uno de ellos.

3.2. MÉTODO.

3.2.1. Obtención de las huellas plantares.

Se ha seguido la siguiente metodología para obtener las huellas plantares de cada pie derecho e izquierdo:

1. Limpieza y secado de las plantas de los pies
2. Entintado de la planta del pie
3. Colocación del papel donde se va a plasmar la huella plantar sobre un soporte rígido
4. Apoyo de la planta del pie presionando para que se imprima la huella plantar completa

3.2.2. Medición de la longitud de la huella plantar.

Sobre la propia huella señala con una línea horizontal el punto más anterior de la huella y con otra el más posterior. A continuación se mide la distancia en centímetros entre ambas líneas (figura 2).

Figura 2. Medición de la longitud de la huella plantar.

3.2.3. Medición de la talla.

Se coloca y mide en centímetros a cada participante en un tallímetro, de forma erguida, con la cabeza en el plano de Frankfort, sin zapatos, con ambos pies en paralelo y los talones juntos.

3.2.4. Estudio estadístico.

Los datos obtenidos se han introducido en el programa Microsoft Excel V.16.25 y el estudio estadístico se ha realizado en la plataforma de software IBM® SPSS®.

Para la talla, se han estudiado en hombres, mujeres y ambos sexos, los siguientes estadísticos descriptivos: media, rango y desviación estándar.

Para la longitud de la huella plantar se han estudiado en hombres, mujeres y ambos sexos los siguientes estadísticos descriptivos: media, rango y desviación estándar

Se ha obtenido el coeficiente de correlación de Pearson entre talla y longitud de la huella plantar. Este coeficiente mide la dependencia lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas, en este caso talla y longitud.

Asimismo, se ha obtenido el coeficiente de determinación o R-cuadrado (R^2). Se obtiene elevando al cuadrado el coeficiente de correlación de Pearson, e indica el porcentaje de la variación de una variable debido a la variación de la otra y viceversa.

4. RESULTADOS.

4.1. TALLA (TABLA 1).

La talla oscila entre 147,5 y 202 cm, con una media de 167,5 cm. La desviación estándar es 11,64.

Por sexos, la talla media de los hombres es 176,5 cm, con una desviación estándar de 10,52, y la de las mujeres fue de 162,4 cm, con una desviación estándar de 8,95.

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
Talla rango (cm)	160-202	147,5 - 179	147,5 - 202
Talla media (cm)	176,5	162,4	167,5
Desviación estándar	10,52	8,95	11,64
Total	18	32	50

Tabla 1. Talla: estadísticas hombres, mujeres y ambos sexos

4.2. LONGITUD HUELLA PLANTAR (TABLAS 2 Y 3).

La longitud media del pie derecho es 23,5 cm, con una desviación estándar de 4,8 y la del pie izquierdo es 23,5 cm, con una desviación estándar de 1,9.

En los hombres, la longitud media del pie derecho es 25,3 cm, con una desviación estándar de 1,6 y la del pie izquierdo es 25,3 cm, con una desviación estándar de 1,4. No se han obtenido diferencias en las longitudes medias de pies izquierdos y derechos.

En las mujeres, la longitud media del pie derecho es 22,5 cm, con una desviación estándar de 1,2 y la del pie izquierdo es 22,5 cm, con una desviación estándar de 1,3. Al igual que en el caso de los hombres, la longitud media de las huellas plantares de las mujeres ha resultado ser la misma para ambos pies.

Se puede observar que no hay diferencias bilaterales significativas en la longitud de las huellas plantares, siendo la longitud media de ambas huellas (pie derecho y pie izquierdo) de los hombres de 25,3 cm y la longitud media de la huella de las mujeres de 22,5 cm en ambos pies. Por tanto, cualquiera de los dos pies puede dar una idea de la talla de una persona.

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
Longitud rango (cm)	21,9 - 27,8	19,8 - 25,4	19,8 - 27,8
Longitud media (cm)	25,3	22,5	23,5
Desviación estándar	1,6	1,2	4,8

Tabla 2. Pie derecho: hombres, mujeres y ambos sexos.

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
Longitud rango (cm)	22,1 - 28,2	19,6 - 25,6	19,6. - 28,2
Longitud media (cm)	25,3	22,5	23,5
Desviación estándar	1,4	1,3	1,9

Tabla 3. Pie izquierdo: hombres, mujeres y ambos sexos.

4.3. EDAD (TABLA 4).

La edad de la muestra oscila entre 20 y 68 años, siendo la media de 41,24 con una desviación estándar de 17,09. La edad media en los hombres es de 47,7 años, mientras que en las mujeres es de 37,6 años.

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
Edad rango (años)	20 - 68	21 - 65	20 - 68
Edad media (años)	47,7	37,6	41,24
Desviación estándar	15,25	17,19	17,09
Total	18	32	50

Tabla 4. Edad: hombres, mujeres y ambos sexos.

4.4. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN (TABLA 5 Y GRÁFICOS 1 A 6).

Coeficiente de correlación	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
Pie derecho	0,822	0,674	0,838
Pie izquierdo	0,862	0,670	0,844

Tabla 5. Coeficientes de correlación ambos pies.

Si valoramos hombres y mujeres conjuntamente, los coeficientes de correlación son 0,838 para el pie derecho y 0,844 para el izquierdo. Esto indica que existe una fuerte correlación entre la talla y la longitud de las huellas plantares de las personas.

Se observa en los hombres un coeficiente de correlación del pie derecho y del izquierdo de 0,822 y 0,862, respectivamente, que son altamente significativos.

En las mujeres, el coeficiente de correlación es de 0,674 para el pie derecho y 0,670 para el izquierdo, lo que supone una menor correlación que en los hombres, pero igualmente significativa.

4. 5. COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN O R-CUADRADO (R^2) (GRÁFICOS 1 A 6).

Ya hemos dicho que el coeficiente de determinación o R-cuadrado (R^2) se obtiene elevando al cuadrado el coeficiente de correlación de Pearson, e indica el porcentaje de la variación de una variable debido a la variación de otra y viceversa. Es decir, mide la precisión general del modelo y cuanto más se acerca a 1 más valor predictivo tiene.

En nuestro estudio, cuando se utiliza en el sexo masculino o en ambos sexos de forma conjunta, el modelo se ajusta más a los datos. En las mujeres el valor es algo menor (0,45), lo que significa que también se ajusta a los datos, pero en menor medida.

Los gráficos 1 a 6 muestran los coeficientes de correlación según sexo y pie. Cuanto más se ajuste el modelo a los datos, los puntos se encontrarán más próximos a la línea de regresión.

- R^2 de la talla/longitud huella plantar derecha en ambos sexos: $R^2 = 0,70$; $p < 0,001$
- R^2 de talla/longitud huella plantar izquierda en ambos sexos: $R^2 = 0,71$; $p < 0,001$
- R^2 de la talla/longitud huella plantar derecha en mujeres: $R^2 = 0,45$; $p < 0,001$
- R^2 de la talla/longitud huella plantar izquierda en mujeres: $R^2 = 0,45$; $p < 0,001$

- R^2 de talla/longitud huella plantar derecha en hombres: $R^2 = 0,67$; $p < 0,001$
- R^2 de la talla/longitud huella plantar izquierda en hombres: $R^2 = 0,74$; $p < 0,001$

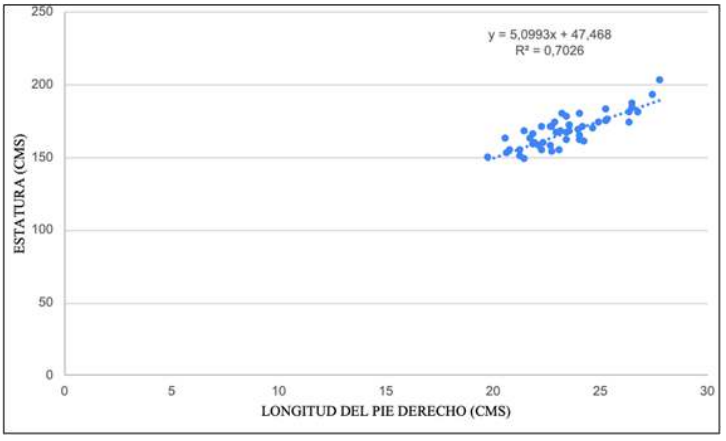


Gráfico 1. Coeficiente de correlación del pie derecho en ambos sexos.

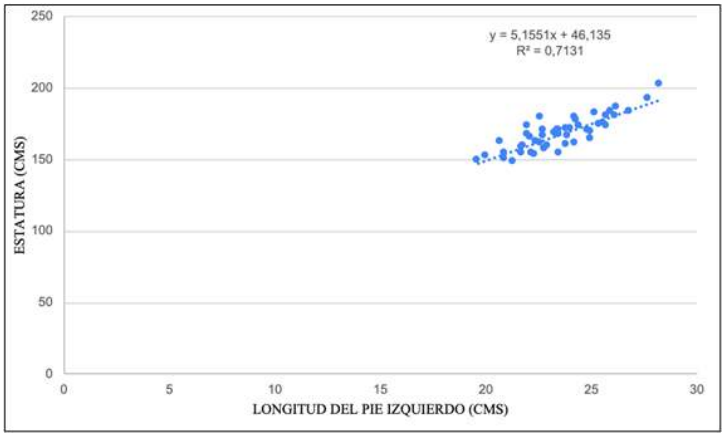


Gráfico 2. Coeficiente de correlación del pie izquierdo en ambos sexos.

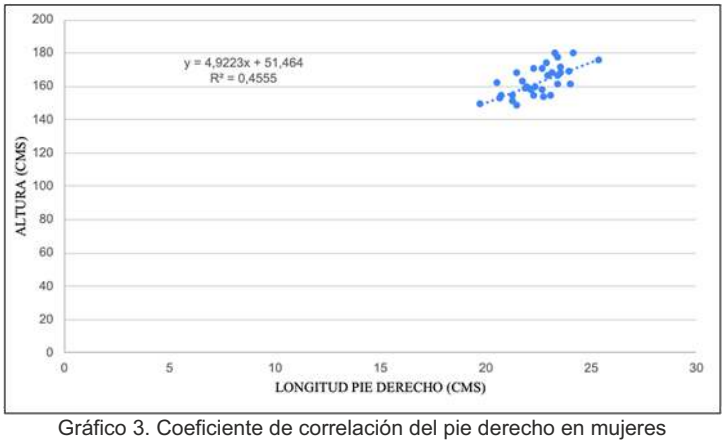


Gráfico 3. Coeficiente de correlación del pie derecho en mujeres

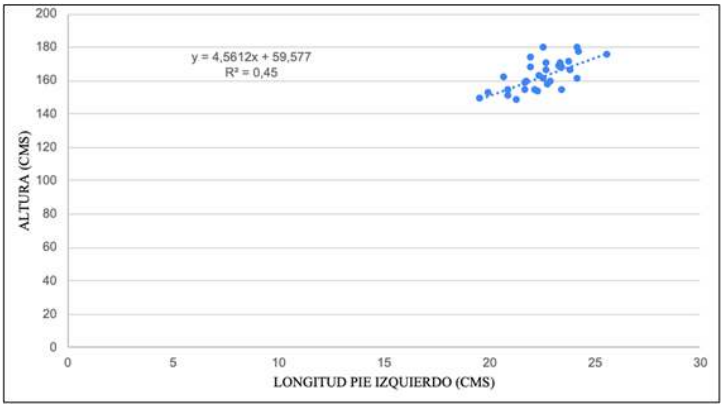


Gráfico 4. Coeficiente de correlación del pie izquierdo en mujeres

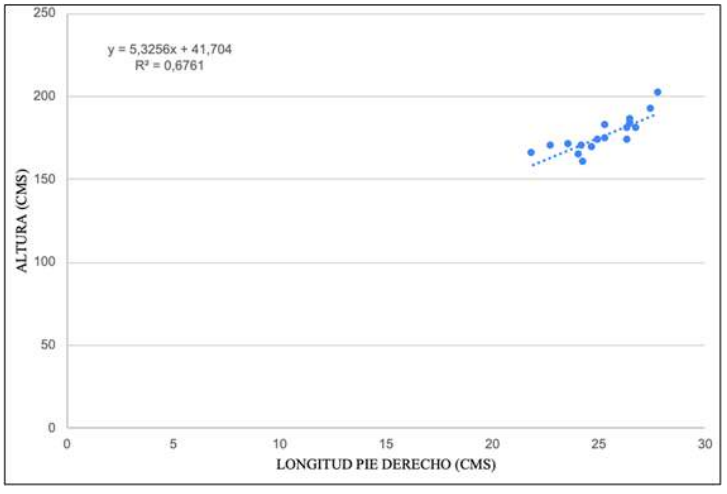


Gráfico 5. Coeficiente de correlación del pie derecho en hombres

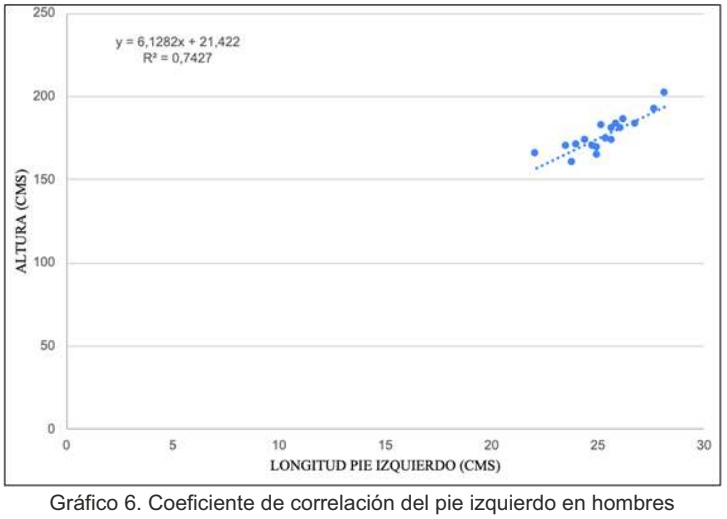


Gráfico 6. Coeficiente de correlación del pie izquierdo en hombres

4.6. ECUACIONES DE REGRESIÓN.

La fórmula de la ecuación de regresión obtenida es la siguiente:

Talla= Coeficiente de Regresión x Longitud de la huella plantar + Valor de la Constante.

A continuación, se recogen las ecuaciones de regresión obtenidas para pies derechos e izquierdos de hombres, mujeres y ambos sexos con sus respectivas desviaciones estándares siendo "y" la talla en cm y "x" la longitud de la huella plantar en cm.

- Pie derecho ambos sexos

  y= 5,1x + 47,46, desviación estándar: 6,4

- Pie izquierdo ambos sexos

  y= 5,15x + 46,13, desviación estándar: 6,3

- Pie derecho hombres

  y= 5,32x + 41,70, desviación estándar: 3,17

- Pie izquierdo hombres

  y= 6,12x + 21,42, desviación estándar: 3,64

- Pie derecho mujeres

  y= 4,92x + 51,46, desviación estándar: 5,32

- Pie izquierdo mujeres

  y= 4,56x + 59,57, desviación estándar: 5,33

Los detalles figuran en las gráficas 1 a 6 donde "y" es la talla que se pretende averiguar y "x" es la longitud de la huella plantar medida.

5. DISCUSIÓN

La estimación de la talla es uno de los parámetros importantes al abordar la identificación individual, existiendo una fuerte correlación entre esta y algunas partes del cuerpo.

Los pies, al apoyarse desnudos en una superficie pueden dejar huellas plantares que habitualmente serán latentes. Se han estudiado con frecuencia estas huellas con objetivo de identificación personal a través de las impresiones que dejan las crestas de la planta del pie, pero pocos autores han intentado estimar la talla a partir de la longitud de la huella plantar.

Nath y col (19) desarrollaron fórmulas de regresión para estimar la estatura a partir de la longitud del pie y la mano en población india. Por otro lado, Agnihotri y col (20) establecieron una correlación entre la longitud del pie y la estatura en una muestra de 250 mauricianos, 125 hombres y 125 mujeres, en la cual también establecieron ecuaciones de regresión para calcular la estatura.

En el presente trabajo de investigación, se ha conseguido desarrollar modelos de regresión lineal para estimar la talla a partir de la longitud de la huella plantar en hombres y mujeres, proporcionando de esta manera una herramienta para determinar la estatura a partir de las huellas de los pies de manera fácil, rápida y precisa.

CONFLICTO DE INTERESES.

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. RODES F. Cuaderno de prácticas de identificación forense. Alicante: Publicaciones de la Universidad de Alicante. 2016.

2. NATH BS. Use of Lower Limb Measurements in Reconstructing Stature among Shia Muslims. The Internet Journal of Biological Anthropology. 2009; 2(2):86-97. Publisher Full Text

3. GILES E, VALLANDIGHAM P H. Height Estimation from Foot and Shoe- print Length. Journal of Forensic Science. 1991; 36(4): 1134- 1151.

4. NATARAJA T, FATIMAH S. (2015). Individualizing characteristics of footprints in Malaysian Malays for person identification from a forensic perspective,

Egyptian Journal of Forensic Sciences. 2015; 5(1):13-22.

5. CUMMINS H, MIDLO C. Fingerprint Palm and Soles. An introduction of Dermatoglyphics. Dover Publications, Inc, New York. 1961.

6. PAREKH U, PATEL R, PATEL P. A study of the relation of stature with foot length in natives of Gujarat state. NHL Journal of Medical Sciences. 2014; 3(1):22-25.

7. MOHANTY BB, AGARWAL D, MISHRA K, SAMANTSINGHAR P, CHINARA PK. Estimation of the height of an individual from foot length; A study on the population of Odisha. Int J Rev Life Sci. 2012; 2(2): 69-74.

8. CHENG JC, LEUNG SS, CHIU BS, TSE PW, LEE CW, CHAN AK, et al. Can we predict body height from segmental bone length measurement? A study of 3,647 children. Journal of Pediatric Orthopedics. 1998; 18:387-93. DOI: 10.1097/01241398-199805000-00022.

9. ROBBINS LM. Estimating Height and Weight from Size of Footprints, Journal of Forensic Sciences, 1986; 31(1): 143-152.

10. Rutishauser IHE. Prediction of Height from Foot Length: Use of Measurement in Field Surveys, Archives of Disease in Childhood, 1968; 43(229): 310-312.

11. DAS R, DAS BM. A Study of the Hira Foot. Man in India. 1966;47(2):139-48.

12. KRISHAN K. Individualizing characteristics of footprints in Gujjars of North India. Forensic Sci Int, 2007; 169(2-3): 137-44.

13. NEVES FB, ARNOLD GP, NASIR S, WANG W, MACDONALD C, CHRISTIE I, ABBOUD RJ. Establishing state of motion through a two-dimensional foot and shoe print analysis: A pilot study. Forensic Sci Int, 2018; 284:176-183.

14. HOWSAM N, BRIDGEN A. A comparative study of standing fleshed foot and walking and jumping bare footprint measurements. Science & Justice, 2018; 58(5), 346-354.

15. STEWART T D. Hrdlika's Practical Anthropometry, 4th ed., Wistar Institute of Anatomy and Biology, Philadelphia. 1952

16. KLEMENTA J, KOMENDA S, KR/TTOGKA J. Use of a Biometrical Method for Prediction of Body Height from the Known Value of Foot Length, Anthropologie (Brno), 1973; 11(1/2): 31-43.

17. ROSSI, DPM. WILLIAM A. Podometrics: A New Methodology for Foot Typing. Contemporary Podiatric Physician, 28-39. 1992

18. WALIA S, MODI BS, PURI N. Sexual dimorphism from foot dimensions and footprints in Haryanvi Jat population. Int J Anat Res, 2016; 4:2142–2147.

19. NATH S, CHUG D. Determination of stature using hand and foot lengths among male and female Brahmins of Sundernagar, Himachal Pradesh. In: Bhasin MK, Nath S. Preceding volume of the seminar on the role of forensic science in the new millennium. India: KRE publishers; 2002. p. 174-81.

20. AGNIHOTRI AK, PURWAR B, GOOGOOLYE K, AGNIHOTRI S, JEEBUN N. Estimation of stature by foot length. Journal of Forensic and legal medicine, 2007;14:279-83.

ESTADO ACTUAL DE LOS SISTEMAS MÉDICO-LEGALES Y FORENSES ENCARGADOS DE LA INVESTIGACIÓN DE MUERTES POTENCIALMENTE ILÍCITAS.

THE INVESTIGATION OF POTENTIALLY UNLAWFUL DEATHS: STATUS OF MEDICO LEGAL AND FORENSIC SYSTEMS.

TIDBALL BINZ M.[1]

1. Relator Especial de las Naciones Unidas sobre ejecuciones extrajudiciales, sumarias o arbitrarias[1]

RESUMEN.
El presente artículo resume el informe sobre el estado actual de la medicina forense en materia de investigación de muertes ilícitas presentado por el autor en junio de 2022 ante Consejo de Derechos Humanos de Naciones Unidas en su condición de Relator Especial de las Naciones Unidas sobre ejecuciones extrajudiciales, sumarias o arbitrarias[2]. El informe se basa en un estudio sin precedentes llevado a cabo con el apoyo de la Universidad de Monash, Australia, incluyendo entrevistas efectuadas a directoras y directores de institutos de medicina legal y forense de más de 60 países de todas las regiones del mundo. El mismo identifica y examina los desafíos que enfrentan los sistemas médico-legales y sus profesionales en la investigación de muertes potencialmente ilícitas. También ofrece ejemplos de buenas prácticas en las investigaciones médico-legales y formula recomendaciones prácticas para mejorar dichos sistemas, incluyendo el cumplimiento de las normas y estándares internacionales que la propia institución del Relator ayudó a desarrollar, promover e implementar durante sus 40 años de existencia (los Principios sobre la Prevención e Investigación Eficaces de las Ejecuciones Extralegales, Arbitrarias y Sumarias, de 1989, y el Protocolo de Minnesota sobre la Investigación de Muertes Potencialmente Ilícitas, de 2016), con el objetivo de mejorar la capacidad forense y con ello fortalecer la protección del derecho a la vida en todo el mundo.

PALABRAS CLAVE: MEDICINA FORENSE, MUERTES ILÍCITAS, PROTOCOLO MINNESOTA, NACIONES UNIDAS.

ABSTRACT.
The present article summarizes the author's report about the current state of forensic medicine in the investigation of unlawful deaths, which he presented in June 2022 to the UN Human Rights Council in his capacity as United Nations Special Rapporteur on extrajudicial, summary or arbitrary executions. The report is based on an unprecedented study carried out with the support of Monash University, Australia, including interviews with directors of institutes of legal and forensic medicine from more than 60 countries in all regions of the world. It identifies and examines the challenges faced by medico-legal and forensic systems and their professionals in the investigation of potentially unlawful deaths. It also offers examples of good practices in medico-legal investigations and makes practical recommendations for improving such systems, including through compliance with international norms and standards that the mandate itself helped develop, promote, and implement during its 40-years' existence, including the UN Principles on the Effective Prevention and Investigation of Extra-Legal, Arbitrary and Summary Executions, and the Minnesota Protocol on the Investigation of Potentially Unlawful Death, with the goal of improving forensic capacity and strengthening the protection of the right to life around the world.

KEY WORDS: FORENSIC MEDICINE, UNLAWFUL DEATHS, MINNESOTA PROTOCOL, UNITED NATIONS.

CONTACTO: Morris Tidball Binz. Email: mtidballbinz@gmail.com

1.INTRODUCCIÓN.

El presente informe examina los problemas que afrontan los sistemas de investigación médico-legal de la muerte, especialmente los médicos forenses y los especialistas auxiliares, al tratar de determinar la causa y el origen médico legal de las muertes potencialmente ilícitas.

1. El Relator Especial sobre ejecuciones extrajudiciales, sumarias o arbitrarias es un experto independiente en derechos humanos nombrado por el Consejo de Derechos Humanos de las Naciones Unidas (NN.UU.). El mandato del Relator Especial fue creado en 1982 y es un cargo honorífico y no remunerado. Hasta la fecha el cargo ha sido detentado por 7 expertos y expertas sucesivos. El actual Relator Especial, Dr. Morris Tidball-Binz, fue designado para el cargo en abril de 2021 y es el primer latinoamericano y médico forense en ocupar este cargo. Ha enfocado la gestión de su mandato en la promoción e implementación de estándares para la prevención e investigación de muertes ilícitas, destacando para ello el importante papel de los sistemas médico-legales y forenses.
2. Investigación médico-legal de las muertes, A/HRC/50/34, Disponible en: https://documents-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/G22/382/90/PDF/G2238290.pdf?OpenElement Visitado el 1 de mayo 2023.

Para elaborar este informe, el Relator Especial solicitó a los Estados y representantes del mundo académico y la sociedad civil contribuciones acerca de la difusión y aplicación del Protocolo de Minnesota sobre la Investigación de Muertes Potencialmente Ilícitas y los Principios relativos a una Eficaz Prevención e Investigación de las Ejecuciones Extralegales, Arbitrarias o Sumarias. El titular del mandato desea expresar su sincero agradecimiento a todos los que respondieron a su solicitud. El Relator Especial también se basó en las investigaciones de la Iniciativa Mundial para la Investigación en materia de Medicina Legal y Derechos Humanos de la Universidad de Monash, Australia, de la que es profesor asociado. Realizó entrevistas con especialistas en criminalística de todas las regiones del mundo acerca de sus sistemas nacionales de investigación médico-legal de las muertes con el objetivo de hacerse una idea cabal y con base empírica de la situación en la que se encuentran esos sistemas. Interrogó a esos especialistas acerca de los problemas que afrontaban y cuáles eran, en su opinión, las mejores prácticas. Realizó consultas adicionales con redes regionales de servicios médico-legales y de criminalística de África, América, Oriente Medio, Europa, y Asia y el Pacífico, y con representantes de organizaciones intergubernamentales e internacionales, entre ellas la Corte Interamericana de Derechos Humanos, la Oficina del Alto Comisionado de las Naciones Unidas para los Derechos Humanos (ACNUDH), la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC) y el Comité Internacional de la Cruz Roja (CICR). El Relator Especial agradece a todos los que han expresado sus puntos de vista.

2. LA OBLIGACIÓN DE INVESTIGAR LAS MUERTES POTENCIALMENTE ILÍCITAS.

Los Estados tienen el deber de investigar las muertes potencialmente ilícitas de las que tengan o deberían haber tenido conocimiento. De hecho, todas las muertes exigen un cierto grado de investigación para determinar si son potencialmente ilícitas o no. El Comité de Derechos Humanos ha concluido que la obligación de investigar posibles violaciones del derecho a la vida está implícita en la obligación de proteger la vida y se ve reforzada por el deber general de garantizar los derechos reconocidos en el Pacto Internacional de Derechos Civiles y Políticos[3]. En un informe de 2015, un anterior Relator Especial, Christof Heyns, señaló que el derecho a la vida no podía considerarse plenamente protegido a menos que se llevaran a cabo investigaciones exhaustivas y eficaces sobre cualquier situación en la que se pudiera haber violado. Los Estados debían efectuar esas investigaciones teniendo en cuenta la necesidad de emplear todos los conocimientos técnicos forenses que fueran necesarios[4]. Por consiguiente, el hecho de no llevar a cabo una investigación adecuada se considera, en sí mismo, una violación del derecho a la vida.

En 1988, la Corte Interamericana de Derechos Humanos dictó una sentencia en la que estableció que la obligación de investigar, así como la de asegurar la rendición de cuentas de los responsables y una adecuada reparación a las víctimas, formaba parte del deber del Estado de proteger el derecho a la vida[5]. La obligación de investigar las posibles violaciones del derecho a la vida no debe emprenderse como una simple formalidad condenada de antemano a ser infructuosa[6], de la misma forma que la investigación no debe depender de la iniciativa procesal de la víctima o de sus familiares o de la aportación privada de elementos probatorios, sin que la autoridad pública busque efectivamente la verdad[7]. La sentencia concluye con la observación de que, cuando no son investigados con seriedad hechos que atentan contra los derechos humanos y puedan atribuirse a particulares, estos resultan, en cierto modo amparados por los poderes públicos[8].

3. Comité de Derechos Humanos, observación general núm. 36 (2018), relativa al derecho a la vida (CCPR/C/GC/36, párr. 27).
4. A/70/304, párr. 63
5. Corte Interamericana de Derechos Humanos, Velásquez Rodríguez vs. Honduras, sentencia de 29 de julio de 1988. Véase también, Alexandra R. Harrington, “Life as we know it: the expansion of the right to life under the jurisprudence of the Inter-American Court of Human Rights”, Loyola of Los Angeles International and Comparative Law Review, vol. 35, núm. 2 (primavera de 2013).
6. Ibid.
7. Ibid.
8. Ibid.

En 1995, el Tribunal Europeo de Derechos Humanos concluyó que la obligación de proteger el derecho a la vida exige una investigación oficial eficaz[9]. No investigar adecuadamente presuntas violaciones del derecho a la vida puede constituir en sí mismo una vulneración de ese derecho[10] Posteriormente, el Tribunal afirmó que debía entenderse que esa obligación era un elemento inherente al derecho a la vida propiamente dicho y constituía de por sí un deber[11]. El Tribunal también aclaró que el deber de investigar las muertes ilícitas se aplicaba incluso cuando el Estado no estaba implicado en la muerte[12]. Del mismo modo, la Comisión Africana de Derechos Humanos y de los Pueblos afirma claramente, en su observación general sobre el derecho a la vida, que el hecho de que los Estados no investiguen de forma transparente las muertes sospechosas constituye una violación del derecho a la vida[13].

El Protocolo de Minnesota, que complementa los Principios, otorga un reconocimiento y una importancia aún mayores a la obligación de investigar. El Protocolo establece que la investigación debe ser rápida, eficaz, exhaustiva, independiente, imparcial y transparente, y que la obligación de investigar se aplica en todos los contextos: en tiempos de paz, en situaciones de disturbios internos y durante los conflictos armados. Ofrece orientaciones prácticas sobre las medidas que deberían adoptarse para investigar las muertes. Contribuye a promover la rendición de cuentas y la reparación de posibles violaciones del derecho a la vida. Tanto el Comité de Derechos Humanos[14] como la Corte Interamericana de Derechos Humanos[15] han afirmado que la investigación de las muertes potencialmente ilícitas debería realizarse de acuerdo con las normas internacionales, incluido el Protocolo.

El derecho internacional establece claramente que no investigar adecuadamente las muertes devalúa la vida. El proceso de investigación médico-legal de las muertes es uno de los medios con los que cuenta la sociedad para afirmar la importancia de cada vida humana. Los Gobiernos deben hacer lo necesario para que estos procesos se organicen y lleven a cabo de manera tal que ello quede de manifiesto.

3.OBJETIVOS Y APORTACIONES DE LOS SISTEMAS DE INVESTIGACIÓN MÉDICO-LEGAL DE LA MUERTE.

El cometido principal de los sistemas de investigación médico-legal de la muerte es determinar, en los casos de muertes potencialmente ilícitas, la identidad de la persona fallecida, la causa y el origen médico legal de la muerte. Se entiende por identidad la atribución del nombre de nacimiento válido o de otro nombre que corresponda al cadáver; por causa de la muerte, la causa médica del fallecimiento; y por origen médico legal de la muerte, si esta se debe a un homicidio, accidente, suicidio o a causas naturales, o ello no se ha podido determinar.

Los sistemas de investigación médico-legal de las muertes hacen una contribución insustituible a la justicia penal, el estado de derecho y la protección del derecho a la vida. Por ejemplo, los médicos forenses pueden ser los primeros en detectar riesgos sociales, como el aumento de las muertes relacionadas con las drogas o debidas a bienes de consumo defectuosos así como las tendencias de las muertes

9. Tribunal Europeo de Derechos Humanos, Gran Sala, McCann and Others v. the United Kingdom, demanda núm. 18984/91, sentencia de 27 de septiembre de 1995, párrs. 160 y 161.
10. Véase, por ejemplo, Tribunal Europeo de Derechos Humanos, Salman v. Turkey, demanda núm. 21986/93, sentencia de 27 de junio de 2000 (34 EHRR 425), párr. 99.
11. Véase Tribunal Europeo de Derechos Humanos, Gran Sala, Mastromatteo v. Italy, sentencia de 24 de octubre de 2002, párr. 89; y Tribunal Europeo de Derechos Humanos, Gran Sala, Janowiec and Others v. Russia, demandas núms. 55508/07 y 29520/09, sentencia de 21 de octubre de 2013, párr. 132
12. Véanse, por ejemplo, Tribunal Europeo de Derechos Humanos, Sección Segunda, Menson v. the United Kingdom, decisión sobre la admisibilidad de la demanda núm. 47916/99, 6 de mayo de 2003; y Tribunal Europeo de Derechos Humanos, Gran Sala, Mustafa Tunç and Fecire Tunç v. Turkey, demanda núm. 24014/05, sentencia de 14 de abril de 2015, párrs. 169 a 171
13. Comisión Africana de Derechos Humanos y de los Pueblos, general comment No. 3 on the African Charter on Human and People's Rights: the right to life (article 4), párr. 15)
14. Observación general núm. 36 (2018), párr. 27.
15. Véanse, por ejemplo, Corte Interamericana de Derechos Humanos, Ortiz Hernández y Otros vs. Venezuela, sentencia de 22 de agosto de 2017, párrs. 158 a 161; y Corte Interamericana de Derechos Humanos, Ruiz Fuentes vs. Guatemala, sentencia de 10 de octubre de 2019, párr. 180.

relacionadas con el trabajo. La evaluación forense de la muerte ha ayudado a prevenir accidentes de tráfico, accidentes laborales y muertes súbitas de lactantes, y a esclarecer casos de violencia en el hogar y de pareja, incluidos feminicidios, y muertes de personas privadas de libertad. Cuando una persona fallece en un hospital, la autopsia es indispensable para entender la evolución clínica de la enfermedad y la muerte del paciente, y ayudar así a prevenir nuevas muertes. Por ejemplo, el conocimiento derivado de las autopsias sobre la apariencia de los pulmones de las víctimas de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) contribuyó a reducir la mortalidad de los pacientes y a desarrollar medidas preventivas. La investigación médico-legal de las muertes también contribuye enormemente a la investigación de las denuncias de crímenes de guerra, crímenes de lesa humanidad y genocidio.

Sin embargo, a pesar de su crucial importancia en la investigación y de su contribución a la protección de la vida, la investigación médico-legal de las muertes con frecuencia no recibe el debido reconocimiento, ni fondos ni recursos suficientes del Estado, y tiende a considerarse menos prioritaria que otros servicios públicos conexos, como la policía y la administración de justicia.

4.ORGANIZACIÓN DE LOS SISTEMAS DE INVESTIGACIÓN MÉDICO-LEGAL DE LA MUERTE.

La organización de los sistemas de investigación médico-legal de la muerte varía mucho entre los países y, en ocasiones, dentro de ellos, también en lo que respecta a su independencia y relaciones jerárquicas. Los sistemas pueden ser nacionales, regionales o locales. Varios sistemas pueden operar simultáneamente en diferentes jurisdicciones, como en el caso de los Estados federales. Ciertas instituciones públicas especializadas, la policía, las fuerzas armadas, los hospitales o las universidades pueden tener servicios médicos forenses propios, o depender de contratistas. Los sistemas pueden encontrarse bajo la supervisión o estar subordinados a los ministerios de salud, justicia, interior o educación, del poder judicial o de ministerios similares, o de varios de ellos. En ocasiones, los servicios de investigación médico-legal de las muertes son organismos públicos administrados por consejos responsables ante uno o varios ministerios. En algunos contextos, puede que se contrate a proveedores privados de servicios forenses para sustituir o complementar los existentes.

Los especialistas en criminalística, incluidos los médicos forenses que se dedican a la investigación médico-legal de la muerte pueden depender o estar subordinados a los tribunales, los funcionarios judiciales encargados de la investigación, los instructores forenses (coroners) con formación jurídica, médica o legos, los fiscales, la policía o las autoridades de un hospital o universidad, o a un consejo de administración establecido por la ley. Algunos también pueden ser contratados por las partes como peritos de parte.

Los tipos de muerte ante los cuales debe procederse a una investigación varían mucho según los países. Sin embargo, en muchos contextos, la discrecionalidad de las autoridades encargadas de la investigación puede limitar los casos en los que se realiza una investigación médico-legal de la muerte, lo que puede afectar al deber de investigar todas las muertes potencialmente ilícitas.

La financiación de los servicios forenses puede provenir de diversas fuentes, como la policía, la fiscalía, los tribunales o diversas dependencias gubernamentales. Los fondos pueden asignarse al pago de los servicios prestados, como las autopsias, o a los presupuestos de las instituciones, o derivar de diversas combinaciones de fuentes de recursos, incluidas contribuciones de los condenados y las empresas de seguros.

En general, la investigación y la formación de postgrado en criminalística, incluidas las oportunidades de desarrollo de las perspectivas de carrera de estudiantes y profesionales, son muy limitadas. Los contextos en que los profesionales de la criminalística tienen la

oportunidad de participar de un ciclo virtuoso, en que la práctica profesional se combina con la docencia y la investigación y estos tres elementos se refuerzan mutuamente, son escasos.

4.1. MÉDICOS FORENSES.

Profesionales de diversas disciplinas contribuyen a la fiabilidad de la investigación médico-legal de las muertes. Entre estos cabe destacar los médicos forenses, que deben contribuir a la identificación de la víctima, determinar la causa de la muerte, dar su opinión sobre la forma en que esta se produjo y certificar la defunción tras completar la investigación.

Los médicos forenses son profesionales de la medicina con formación especializada. Se dedican a la investigación médico-legal de la muerte, pero atienden con frecuencia a personas en vida (como las víctimas de agresiones, violencia sexual y tortura). Deben contar con probada experiencia en la evaluación de lesiones y la anatomía patológica que son, entre otras materias y competencias, fundamentales para la correcta realización de una autopsia[16].

4.2. AUTOPSIA O EXAMEN POST MORTEM.

Una autopsia o examen post mortem incluye normalmente un examen externo detallado, seguido de la disección y el examen interno del cadáver. El objetivo de este examen en los casos de muerte potencialmente ilícita es descubrir, describir y registrar los procesos patológicos -incluidas las lesiones- que presenta el fallecido y sus características. Combinándolos con los conocimientos sobre la historia del caso, incluidos los antecedentes médicos y lo observado en el lugar de los hechos, el médico forense puede llegar a conclusiones sobre la causa y la forma en que se produjo la muerte y, en los casos en los que existan dudas, sobre la identidad del fallecido. Con frecuencia se requieren exámenes, investigaciones, análisis y opiniones de otros especialistas, entre otros para confirmar la identidad del difunto[17]. Los resultados de una autopsia forense u examen post mortem son esenciales para establecer las circunstancias de la muerte y ayudan a determinar su causas y forma o manera de muerte. Cualquier restricción que, en un caso de muerte potencialmente ilícita, impida proceder a una autopsia completa, incluida la necesaria disección y examen interno del cadáver, deberá consignarse debidamente, junto con sus razones, en el informe de la autopsia.

Cuando existen dudas acerca de las circunstancias de la muerte, el médico forense debe aplicar los resultados de la autopsia a la reconstrucción de esas circunstancias. Para ello, debe por lo general acudir al lugar en que se produjo la muerte, preferiblemente cuando el cadáver aún se encuentra allí. Los médicos forenses deben dejar constancia de sus observaciones y hallazgos para que otros profesionales puedan sacar sus propias conclusiones de manera independiente. Este proceso, que se ha dado en llamar “revisabilidad”, constituye un principio fundamental. El informe resultante debe ser exhaustivo e incluir una opinión con base empírica sobre la identidad del fallecido y la causa, forma y circunstancias de la muerte. El informe de la autopsia también debe ser lo suficientemente detallado como para permitir la

16. Entre los conocimientos fundamentales con los que debe contar un médico forense que se ocupe de la investigación médico-legal de las muertes figuran los de: ciencias básicas de la patología, es decir, la microbiología y la biología molecular, incluidas la genética, la bioquímica y la hematología; anatomía patológica, es decir, la identificación de las características macroscópicas y microscópicas típicas de las enfermedades y las lesiones, y nociones de histopatología suficiente para evaluar los signos de importancia forense; aspectos de la neuropatología y la patología pediátrica, cardíaca, obstétrica y neonatal; principios de toxicología, incluyendo la selección, conservación, análisis e interpretación de muestras; radiología forense, incluida la tomografía computarizada post mortem; patología forense, como se estudia en los principales manuales y publicaciones; derecho y ética médicos; manejo, examen e interpretación del lugar de los hechos; práctica de autopsias, también bajo supervisión y evaluación, y la comprensión de las alteraciones y los artefactos post mortem; y redacción de informes.
17. Entre las especialidades cabe mencionar la toxicología, la histología, la neuropatología, la antropología, la odontología, la entomología, la microbiología, la bioquímica, la biología molecular (es decir, el ADN), el cultivo de tejidos, las pruebas de los dispositivos implantados (como el examen de los marcapasos y desfibriladores implantados) y las ciencias forenses conexas, como el análisis de huellas dactilares, la balística y la química. Estas investigaciones se utilizan habitualmente en algunos sistemas de investigación médico-legal de las muertes.

evaluación de nuevas cuestiones que no se hayan tenido en cuenta en esta.

Una autopsia plantea cuestiones éticas y religiosas, y quienes la realizan deben esforzarse por respetar la cultura y las costumbres de todas las personas afectadas por la investigación, así como los deseos de los familiares, cumpliendo al mismo tiempo su deber de llevar a cabo una investigación eficaz[18]. Cuando una comunidad religiosa objete el retraso de la inhumación o la alteración del cuerpo, es preciso hacer un esfuerzo especial, en colaboración con la comunidad, para encontrar la mejor manera de satisfacer al mismo tiempo las exigencias de la justicia y las creencias religiosas y culturales. En general, la persona objeto de la autopsia ha muerto recientemente. Para sus familiares y amigos, el fallecido sigue siendo una persona. Por lo tanto, el cuerpo debe ser tratado con respeto. La autopsia debería ser necesaria, estar debidamente autorizada y cumplir los objetivos establecidos en la legislación. La labor de todas las personas que intervienen en la investigación médico-legal de la muerte debe respetar los principios éticos estipulados en el Protocolo de Minnesota[19].

4.3. INVESTIGACIÓN DE LA ESCENA O LUGAR DE LA MUERTE: LA FUNCIÓN DE LOS MÉDICOS FORENSES.

Según el párrafo 90 del Protocolo de Minnesota, el médico forense debe, en general, acudir al lugar en que se produjo la muerte. La policía cumple una función esencial en la escena del delito: protege y documenta el lugar de los hechos, reúne y preserva los elementos de prueba, asegura la cadena de custodia de las pruebas reunidas y entrevista a los posibles testigos. Sin embargo, las lesiones y sus efectos, la fisiología y las respuestas fisiológicas, las hemorragias, la sangre, la conmoción cerebral, la pérdida de conocimiento, la agonía, la muerte y las alteraciones post mortem, entre otros fenómenos, deben ser evaluados por un médico forense.

4.4. DEFICIENCIAS Y DIFICULTADES.

Las deficiencias que se señalan en la presente sección se mencionaron repetidamente en las entrevistas con profesionales de las ciencias forenses de probada experiencia celebradas durante la investigación para el presente informe. Todos los Estados no presentan todos los problemas referidos, ni en el mismo grado. No obstante, los problemas descritos afectan a los principales aspectos de los sistemas de investigación médico-legal de las muertes, entre ellos: la legislación en la materia; la formación y la capacitación; la disponibilidad de profesionales cualificados; el manejo del lugar en que se produjo la muerte; los procesos de autorización de las autopsias; el acceso a las pruebas, las instalaciones y los recursos materiales, incluidos los equipos; las normas de seguridad y salud en el trabajo; y la disponibilidad de los servicios especializados auxiliares necesarios.

Muchos países no cuentan con un número suficiente de médicos forenses para ocuparse de la investigación médico-legal de las muertes. En otros, médicos sin estudios ni formación en criminalística pueden ser nombrados médicos forenses.

Con frecuencia, la legislación que regula la investigación médico-legal de la muerte no es adecuada para asegurar el cumplimiento de las normas, incluidas las recomendaciones del Protocolo de Minnesota, ni la resolución de los problemas que se plantean actualmente en la investigación de las muertes.

Cabe la posibilidad de que no se redacten informes escritos de las autopsias, o que estos no sean de un nivel que permita la revisión. Solo unas pocas jurisdicciones cuentan con procesos de aseguramiento y control de la calidad,

18. Véase Mohamed M. El Nageh y otros, Ethical Practice in Laboratory Medicine and Forensic Pathology (Alejandría (Egipto)), Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud para el Mediterráneo Oriental, 1999). Véase también el Protocolo de Minnesota sobre la Investigación de Muertes Potencialmente Ilícitas, párr. 43. Disponible en: https://www.ohchr.org/sites/default/files/Documents/Publications/MinnesotaProtocol_SP.pdf Visitado en mayo 2023
19. Véanse los párrs. 41 a 45 del Protocolo

incluida la certificación de los profesionales y la acreditación de los laboratorios.

Los sistemas de investigación médico-legal de la muerte suelen carecer de la financiación necesaria y no pueden funcionar como exigen las normas internacionales.

En muchos contextos, estos sistemas -incluidos los que dependen de las fuerzas policiales o de seguridad- no son totalmente independientes, cosa que plantea dudas sobre la objetividad e imparcialidad de las investigaciones que realizan. En todo el mundo hay pocos departamentos académicos de medicina legal. Si bien esta disciplina es una especialidad médica de postgrado, muchos sistemas de investigación médico-legal de la muerte carecen de médicos forenses con formación especializada. En consecuencia, muchos homicidios y otras muertes no naturales no se reconocen como tales y, en el mejor de los casos, se investigan de manera inadecuada. La falta de interés por parte del mundo académico también hace que rara vez se lleve a cabo la investigación científica necesaria.

Fuera de las grandes ciudades, muchos pueblos y regiones, especialmente de las zonas rurales, carecen de sistemas de investigación médico-legal de las muertes adecuados o dotados de los recursos necesarios; ello aumenta las probabilidades de que allí no se detecten o investiguen muertes potencialmente ilícitas.

En condiciones ideales, las autopsias deberían hacerse poco después de la muerte. Sin embargo, esto no siempre ocurre. Puede que los médicos forenses no tengan acceso a las instalaciones adecuadas; que se demoren los procesos administrativos conexos, incluida la autorización de la autopsia; y que la acumulación de casos atrasados haga que no se realicen sino las autopsias más urgentes. Por lo tanto, cuando se examinan, es posible que los cadáveres se encuentren en diversas etapas de descomposición, lo que puede afectar a las pruebas y los resultados de la autopsia.

A menudo, las instalaciones en las que los médicos forenses deben practicar las autopsias, incluidas las salas de las funerarias y los cementerios, son inapropiadas para ese fin.

En entornos de escasos recursos, los depósitos de cadáveres, cuando los hay, suelen carecer de instalaciones y servicios esenciales, como electricidad, agua corriente, ventilación, almacenamiento refrigerado operativo para los cadáveres, criptas con cerradura y bolsas y etiquetas para los cuerpos. Con frecuencia, no hay velatorios ni salas de espera adecuadas para los familiares. A veces, se colocan varios cuerpos en compartimentos individuales, con el consiguiente manejo indigno de los fallecidos y la contaminación indebida de las pruebas entre los cadáveres. Los depósitos también pueden estar infestados de alimañas y presentar un nivel de higiene inadecuado. Es posible que los médicos forenses y el personal técnico no tengan dónde ducharse después de realizar una autopsia. La falta de equipos básicos de protección personal puede exponerlos a contraer enfermedades e infecciones. Es posible que no exista un espacio específico para que los médicos forenses redacten los informes ni, como sucede a menudo, un archivo seguro. Se presta poca o ninguna atención al bienestar psicológico del personal.

La escasa remuneración de los médicos forenses y las exigencias que compiten por su tiempo hacen que, con frecuencia, no se dedique el tiempo suficiente a cada autopsia, lo que se traduce en informes poco fiables. Cuando se paga por autopsia realizada, puede haber un incentivo para hacer tantas como sea posible. Esto puede producir resultados poco fiables, constituye una falta de respeto a los fallecidos y a sus familiares y contradice el imperativo ético de que la autopsia contribuya lo más posible al bien común.

Los médicos forenses rara vez gozan del mismo prestigio que otros médicos especialistas. Se ocupan de los muertos, pueden no haber cursado formación especializada y existe a su respecto la percepción errónea de que no contribuyen demasiado a salvar vidas. En general, esto se convierte en un círculo vicioso que lleva a los médicos jóvenes a elegir otras especialidades.

En muchos contextos, la identificación de los

cadáveres o restos humanos es responsabilidad de la policía. Sin embargo, la participación de un profesional médico forense y de otros especialistas, como antropólogos, dentistas y genetistas forenses, sigue siendo esencial, también en casos de desapariciones forzadas o involuntarias.

La investigación médico-legal de la muerte con perspectiva de género sigue siendo la excepción, lo que puede afectar a la investigación de las muertes ilícitas derivadas de la violencia de género, como el feminicidio[20]. Muy pocos sistemas de investigación médico-legal de las muertes cuentan con programas institucionales integrales de sensibilización y formación de su personal sobre la perspectiva de género, y solo una minoría aplica procedimientos operativos estándar que tienen en cuenta las cuestiones de género. La UNODC y el ACNUDH, entre otras entidades, están contribuyendo a abordar este problema[21].

Pocos países disponen de estadísticas centralizadas y fiables sobre los cuerpos que permanecen sin identificar tras la investigación médico-legal, o de sistemas para asegurar su identificación futura. Por lo tanto, es importante subrayar que cada cadáver no identificado corresponde a una persona desaparecida.

En algunos contextos, puede que no se investigue la muerte cuando se desconoce la identidad del fallecido. Esto puede dar lugar al incumplimiento del deber de investigar todas las muertes potencialmente ilícitas, y afecta en especial a los miembros de las comunidades y grupos más pobres y marginados, como los refugiados, los desplazados y los migrantes indocumentados. Por lo tanto, es imprescindible que, cuando una persona pueda haber sido víctima de una muerte potencialmente ilícita dentro de las fronteras de un Estado u otro lugar bajo su jurisdicción, esta muerte sea objeto de una investigación eficaz.

En los países que cuentan con sistemas que exigen invariablemente la certificación de las defunciones, la presentación de una partida de defunción en la que se establezca que la muerte se produjo por causas naturales suele servir como prueba de que no se requieren ulteriores investigaciones; en caso contrario, debería procederse a una investigación médico-legal. Sin embargo, solo se deja constancia en un registro de la causa de la muerte en alrededor del 67 % de los fallecimientos que se producen en el mundo. Ello significa que, al menos en el 30 % de los decesos, pueden pasarse por alto muertes potencialmente ilícitas que exijan una investigación médico-legal adecuada[22].

En algunos países y territorios, no se permite a los familiares de los fallecidos hablar con los médicos forenses encargados de la investigación de la muerte de sus seres queridos, y puede que se prohíba a los médicos forenses dirigirse a los deudos del difunto. En algunos casos, puede que los familiares ni siquiera tengan derecho a leer el informe.

En otros, puede exigirse a los familiares que cubran los gastos de la investigación de la muerte, incluidos los de la autopsia, el transporte y el depósito del cadáver.

En algunos contextos, como en casos de violaciones de los derechos humanos, los médicos forenses y otros especialistas son víctimas de actos o amenazas de violencia debido a su papel en la investigación de las muertes. Los profesionales de la criminalística deben gozar de protección en el desempeño de sus funciones, y toda amenaza o agresión de las que puedan ser víctimas como consecuencia de su actividad debe sancionarse, independientemente de su origen.

Las escenas del delito de muertes potencialmente ilícitas no siempre se protegen, lo que puede dar lugar a la pérdida o alteración

20. El ACNUDH redactó normas regionales para América Latina. Véase Camilo Bernal Sarmiento y otros, Modelo de protocolo latinoamericano de investigación de las muertes violentas de mujeres por razones de género (femicidio/feminicidio) (ACNUDH y Entidad de las Naciones Unidas para la Igualdad de Género y el Empoderamiento de las Mujeres (ONU-Mujeres), 2014).
21. Véase, por ejemplo, Mirko Fernandez y Jane Townsley, The Handbook on Gender-Responsive Police Services: For Women and Girls Subject to Violence (Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito y otros, 2021); e Integración de la perspectiva de género en la investigación en derechos humanos. Guía y práctica (publicación de las Naciones Unidas, 2018).
22. Véase, Banco Mundial, “Exhaustividad del registro de muertes con información sobre causa de muerte”, fuentes de datos del Observatorio mundial de la salud. Puede consultarse en https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.REG.DTHS.ZS?end=2017&start=1998

de las pruebas[23]. Puede que no se disponga de bolsas para facilitar el transporte del cadáver y proteger las pruebas. Esta práctica no otorga el debido respeto al cuerpo, agrava su deterioro y puede provocar la pérdida o la contaminación cruzada de las pruebas.

En muchos contextos, no hay suficientes médicos forenses para acudir a los lugares en los que se han producido muertes potencialmente ilícitas o no se exige su presencia allí para documentar y retirar los restos. En algunos casos, la policía ni siquiera se presenta en el lugar de los hechos para llevar a cabo la debida investigación, o acude con mucho retraso, incluso días después de producida la muerte, con el consiguiente riesgo de que se pierdan las pruebas necesarias para la investigación fiable de una muerte potencialmente ilícita. Estas prácticas son contrarias al requisito, previsto en el derecho internacional, de que la investigación sea rápida, eficaz y exhaustiva.

Los médicos y demás profesionales de la criminalística pueden tener dificultades para acceder a servicios especializados esenciales, como el análisis de huellas dactilares y de balística, o a herramientas especializadas, como aparatos de tomografía computarizada, que requieren para sus exámenes post mortem, análisis e investigaciones.

En algunos contextos, la desregulación de los sistemas de investigación médico-legal de las muertes ha dado lugar a la privatización de algunos o todos los servicios médicos forenses, con la consiguiente pérdida de profesionales cualificados disponibles y las dificultades para cubrir las vacantes fuera de las zonas urbanas.

Las deficiencias y dificultades expuestas en el presente informe plantean interrogantes sobre el estado de la protección del derecho a la vida, que requiere instituciones y procedimientos adecuados para la investigación fiable de toda muerte potencialmente ilícita. El Relator Especial considera que, con escasas excepciones, no hay capacidad suficiente a nivel mundial para llevar a cabo una investigación de las muertes potencialmente ilícitas conforme a los Principios relativos a una Eficaz Prevención e Investigación de las Ejecuciones Extralegales, Arbitrarias o Sumarias y el Protocolo de Minnesota.

4.5. INDEPENDENCIA.

La contribución de los sistemas de investigación médico-legal de la muerte en los casos de muertes potencialmente ilícitas puede verse seriamente menoscabada en función de las organizaciones de las que estos sistemas dependen financieramente o a las que están subordinados.

Por razones de organización, legales y financieras, los médicos forenses y otros especialistas suelen topar con limitaciones para ejercer su discrecionalidad profesional. En la mayoría de los Estados, si no en todos, los servicios de policía son los primeros en responder a las denuncias de muertes potencialmente ilícitas y suelen, por tanto, encargarse de determinar, con frecuencia sin tener acceso a los conocimientos técnicos necesarios, si una muerte es sospechosa y requiere una investigación. Esto puede dar lugar, por ejemplo, a que muertes que podrían ser homicidios se den por naturales o debidas a un suicidio o accidente, sin que se realicen más investigaciones. Cuando los médicos forenses no han acudido al lugar de los hechos, es posible que no dispongan de información sobre las circunstancias en las que se encontró el cadáver u otro dato pertinente, o que esta información no sea de primera mano. Puede que se prohíba a los médicos forenses hablar con los familiares o los testigos, o examinar el historial médico de la víctima. Por lo tanto, estos pueden depender exclusivamente de los informes de la policía o de otro personal no médico.

El Relator Especial considera que no existen razones satisfactorias que justifiquen que, como sucede en muchos contextos, los médicos solo accedan, si lo hacen, de manera indirecta, a pruebas que pueden contribuir a determinar la

23. Ken Obenson y George Enow Orock, “An overview of the challenges facing death investigation systems in certain resource limited countries”, Journal of Forensic and Legal Medicine, vol. 50 (agosto de 2017).

causa y la forma de la muerte. Tampoco existen razones satisfactorias que justifiquen que, en numerosos casos, personas sin formación en medicina legal puedan tomar una decisión en ese ámbito, como la de si es necesario o no proceder a una autopsia. El Relator Especial es consciente de que puede haber razones históricas y culturales que lo expliquen, al menos parcialmente. Las prácticas y normas correspondientes pueden, de hecho, haberse establecido en el período colonial o cuando el desarrollo de las ciencias forenses no les permitía necesariamente hacer una contribución significativa a las conclusiones sobre la causa y la forma o manera de una muerte. Sin embargo, como la medicina legal y las necesidades judiciales han evolucionado enormemente, esto ha cambiado.

A pesar del carácter esencial de los exámenes post-mortem y las autopsias en la investigación de las muertes, los médicos forenses son en gran medida actores secundarios, que tropiezan con dificultades para ejercer debidamente su profesión. En particular, que dependan en gran medida de las decisiones de la policía (o de los fiscales o los funcionarios judiciales encargados de la investigación) restringe directamente su independencia. Esto puede afectar a la imparcialidad de la investigación y es, por tanto, contrario a los Principios y al Protocolo de Minnesota.

4.6. BUENAS PRÁCTICAS.

Además de determinar los numerosos problemas y deficiencias de los sistemas de investigación médico-legal de la muerte en todo el mundo, la investigación que se hizo para el presente informe también ha identificado mejores prácticas que pueden servir de modelo.

La organización de los servicios médicos forenses en Costa Rica tiene muchos aspectos recomendables. Los servicios dependen administrativamente del poder judicial, cuya independencia, incluida la independencia presupuestaria, está consagrada en la Constitución. El Departamento de Medicina Legal abarca secciones de patología, psiquiatría, psicología, radiología, antropología y odontología forenses, y de clínica y medicina del trabajo forenses. El Departamento de Ciencias Forenses, también dependiente del poder judicial, se encuentra físicamente al lado del Departamento de Medicina Legal, lo que facilita la comunicación diaria entre los profesionales de la medicina y las ciencias forenses. Hay 10 unidades de medicina legal en todo el país. Las personas que desean convertirse en médicos forenses deben someterse a un riguroso proceso de formación y selección. Los candidatos seleccionados rotan por períodos de seis meses entre seis unidades forenses, en las que adquieren experiencia práctica y académica. Los profesionales están familiarizados con las mejores prácticas de la disciplina, incluido el Protocolo de Minnesota. Cada semestre, los pasantes deben redactar un artículo para la revista de medicina legal de Costa Rica. Para graduarse, los residentes también deben realizar y presentar una investigación sobre un tema innovador[24].

El Gobierno de Chile reorganizó su Servicio Médico Legal en 2006, tras un escándalo público resultante de la identificación errónea de víctimas de desapariciones forzadas. Como parte del proceso, el Gobierno convocó a un grupo internacional de expertos forenses para que supervisaran reformas acordes con el Protocolo de Minnesota, incluida la acreditación de los laboratorios, la certificación de los profesionales y las prácticas para garantizar la transparencia y la rendición de cuentas a los familiares y la población en general.

En Colombia, el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses se reorganizó y modernizó a finales de los años noventa, con la ayuda de Alemania y los Estados Unidos de América, en respuesta al brusco aumento de la delincuencia en el país, incluidas las muertes ilícitas. Las reformas se llevaron a cabo de conformidad con las mejores prácticas, incluido el Protocolo de Minnesota. El Instituto ofrece servicios de asesoramiento y fomento de la capacidad a otros sistemas de investigación

24. Franz Vega Zúñiga, Lawrence Chacón Barquero y Kennette Villalobos León, “Medicina Legal de Costa Rica. Historia, actualidad y proyección a futuro”, Revista Medicina Legal de Costa Rica, vol. 36, núm. 2 (2019).

médico-legal de las muertes de la región, entre otras cosas sobre la aplicación del Protocolo, y ha redactado valiosos manuales y directrices para los profesionales de la criminalística, por ejemplo, sobre la investigación de las muertes potencialmente ilícitas, la tortura y el feminicidio.

La normalización de la práctica de la medicina legal es un objetivo importante a nivel mundial y nacional. El enorme número de jurisdicciones y la variedad de sistemas existentes llevaron al Consejo Nacional de Investigaciones de los Estados Unidos a afirmar que la confusión y multitud de sistemas y normativas dificultaban, cuando no impedían, la normalización de los servicios[25]. Por su parte, hasta 2000, había varios institutos médico-legales en Portugal. Estos se fusionaron en un servicio autónomo -el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses-, que cuenta con 33 oficinas en todo el país. La fusión comprendió la adopción de procedimientos armonizados, medidas de aseguramiento y control de la calidad de los servicios, requisitos de información, planes de formación y un marco ético, tal como se recomienda en el Protocolo de Minnesota[26]. La fusión se basó en las recomendaciones de un grupo internacional de médicos forenses de probada experiencia procedentes de cuatro países, que realizaron visitas periódicas para supervisar las reformas.

En Sudáfrica, una ley de 1959 disponía que, en todos los casos de presunta muerte violenta, un médico debía proceder a un examen. Cabe destacar que quedaba a la discreción del médico si se debía examinar algún órgano, tejido o fluido o cualquier otra sustancia o elemento del cadáver. Esto permitía a los médicos forenses investigar las muertes violentas como juzgaran necesario[27]. Una ley más reciente[28] estipula que solo los médicos competentes (médicos forenses) pueden realizar exámenes médico-legales; los médicos forenses pueden acudir al lugar en que se ha producido la muerte y recabar toda la información que consideren pertinente, entre otros medios interrogando a cualquier persona, procurándose los historiales médicos, tomando fotografías, asumiendo la custodia del material probatorio (como medicamentos) y realizando exámenes post mortem, autopsias y las demás investigaciones que consideren necesarias. La legislación no restringe el número ni la naturaleza de esas investigaciones especiales ni los especialistas adicionales a los que pueda recurrirse[29], y permite a los médicos forenses sudafricanos actuar de forma independiente y en colaboración con otros, como recomienda el Protocolo de Minnesota, solo sujetos a las limitaciones presupuestarias. Este marco jurídico, que presenta similitudes con el sistema de médicos forenses de algunas partes de Estados Unidos, es un ejemplo que valdría la pena emular.

La organización de una entidad puede contribuir a su independencia o socavarla. Es poco probable que subordinar los servicios médicos forenses a la policía, los fiscales, los jueces, o a departamentos en lo que se les atribuya escasa prioridad, promueva su independencia. La creación de un órgano de supervisión independiente, como una comisión o junta integrada por personas de probada experiencia y reputación de los sectores de la salud, la justicia, la educación y la comunidad, puede contribuir a resguardar los servicios médicos forenses de presiones indebidas y potenciar su independencia. Entre los ejemplos de este tipo de mecanismo de salvaguarda institucional cabe citar los departamentos de medicina legal de los Estados Unidos.

En algunos países, como Chile, la investigación médico-legal de las muertes se lleva a cabo con un enfoque multidisciplinario, lo que permite a los investigadores, incluidos los médicos forenses, preparar un informe integral sobre sus observaciones, incluida una interpretación fidedigna de los resultados, tal como se

25. Comité encargado de Determinar las Necesidades de las Comunidad de las Ciencias Forenses y otros, Strengthening Forensic Science in the United States: A Path Forward (Washington, D.C., 2009), pág. 246
26. Duarte Nuno Vieira, "Forensic medicine and forensic sciences in Portugal", Bulletin of Legal Medicine, vol. 14, núm. 1 (abril de 2009).
27. Gert Saayman, "Investigación de la muerte y medicina legal en Sudáfrica: perspectivas históricas, statu quo y quo vadis?", Academic Forensic Pathology, vol. 10, núms. 3 y 4 (2020).
28. Sudáfrica, Ley Nacional de Salud, 2003 (Ley núm. 61 de 2003) por la que se regula la prestación de servicios de patología forense, Boletín Oficial, núm. 41524 (2018).
29. Gert Saayman, ibid.

recomienda en el Protocolo de Minnesota.

Los servicios médicos forenses pueden hacer importantes aportaciones a la salud individual y colectiva. El asesoramiento genético y la donación de tejidos pueden contribuir a la salud de las personas. La evolución de la práctica de la medicina, las mejoras de las normas de seguridad y salud en el trabajo y el descenso de las muertes resultantes de accidentes de tráfico se han traducido en ingentes beneficios para la salud pública. Muchas otras innovaciones se han derivado del análisis de datos obtenidos en las autopsias. Investigaciones recientes realizadas en África en cadáveres sometidos a autopsias forenses detectaron una proporción considerable de casos de tuberculosis que, de otro modo, habrían pasado inadvertidos[30].

Para aumentar al máximo su calidad y fiabilidad, los sistemas de investigación médico-legal de las muertes también necesitan dedicarse a la investigación científica. Algunos de estos sistemas han logrado crear un ciclo virtuoso de práctica profesional combinada con la docencia y la investigación, en el que estos tres elementos se refuerzan mutuamente. La interacción entre estos tres pilares contribuye a mantener un conjunto de médicos forenses y personal científico altamente motivados, como en el caso de los servicios de patología forense de Ontario, en el Canadá. Este servicio también ofrece formación y asistencia para la investigación a terceros países; entre los ejemplos de ello cabe citar la investigación de una nueva enfermedad neurodegenerativa en Uganda que requiere herramientas de medicina legal (especialmente de autopsia y anatomía patológica) para su comprensión, tratamiento y prevención[31].

Cuando los médicos forenses tienen la posibilidad de hablar con los deudos del difunto, estos pueden proporcionarles una información valiosísima sobre lo que ocurrió a sus familiares fallecidos, y el procedimiento médico-forense deja de estar rodeado de misterio. Esto contribuye a evitar problemas de comunicación y, posiblemente, a que los familiares acepten mejor los resultados de la investigación de la muerte. Algunos servicios médicos forenses también emplean trabajadores sociales y asesores para prestar apoyo a los familiares del difunto. Además, se ha demostrado que, como es lógico, la transparencia para con los familiares y la población en general prevista en el Protocolo de Minnesota incide positivamente en la prestación de los servicios, por lo que se está incorporando progresivamente en las prácticas de los sistemas de investigación médico-legal de las muertes en algunos países.

En vista de que los profesionales de la medicina forense y otros especialistas que intervienen en la investigación médico-legal de la muerte son relativamente poco numerosos en cada país, es importante que se relacionen con sus pares a nivel internacional para evitar el estancamiento y el aislamiento profesionales. Por ejemplo, una asociación internacional de patólogos forenses de raza negra y pertenecientes a minorías étnicas ha creado recientemente un grupo en un servicio de mensajería para que sus miembros intercambien información sobre eventos científicos, publicaciones y oportunidades de formación, así como opiniones, y se consulten mutuamente sobre asuntos de especial interés profesional para el grupo, incluido el impacto de la discriminación racial en esas investigaciones. Hechos innovadores como estos son fundamentales para el avance de la disciplina y deben fomentarse. También debe permitirse y alentarse la participación en asociaciones forenses regionales e internacionales y otros mecanismos de cooperación en materia de investigación, práctica y formación internacionales.

Las asociaciones profesionales también contribuyen a contrarrestar y superar el aislamiento que pueden experimentar muchos médicos forenses y otros especialistas. La Academia Internacional de Medicina Legal (fundada en 1938) y la Asociación Internacional de Ciencias Forenses (fundada en 1957) celebran reuniones científicas periódicas que permiten el intercambio internacional de información. Entre las asociaciones profesionales de más reciente creación figuran

30. Luchenga Mucheleng'anga y otros, “Incidental tuberculosis in sudden, unexpected, and violent deaths in the community Lusaka, Zambia: a descriptive forensic post-mortem examination study”, International Journal of Infectious Diseases (marzo de 2022).
31. Michael Pollanen, Patólogo Forense, Jefe de los Servicios de Patología Forense de Ontario, comunicación personal con el Relator Especial.

la Asociación de Medicina y Ciencias Forenses de la India y el Pacífico, la Sociedad Africana de Medicina legal, la Organización de Medicina legal de los Países Islámicos y el Consejo Europeo de Medicina Legal. El Consejo Europeo de Medicina Legal redactó una propuesta a la Unión Europea de Médicos Especialistas, que dio lugar al reconocimiento como especialidad de la medicina legal y forense. El Consejo redactó varias normas para Europa, entre ellas la relativa a la armonización de las autopsias médico-forenses, de 1999, actualizada en 2014. Estas asociaciones y redes desempeñan un papel cada vez más importante en la promoción, en todo el mundo, de las mejores prácticas de investigación forense de las violaciones de los derechos humanos, incluido el Protocolo de Minnesota.

La Sociedad Africana de Medicina legal, creada en 2010, se financió inicialmente con fondos del Gobierno de Australia[32]. La Sociedad tiene por objeto mejorar las oportunidades de formación, incluidos los intercambios internacionales, y las infraestructuras del continente. Entre sus objetivos figura crear la tan necesaria escuela africana de medicina y ciencias forenses, que se encargará de supervisar las becas de estudios en medicina y ciencias forenses en África.

La Red Iberoamericana de Instituciones de Medicina Legal y Ciencias Forenses reúne a autoridades de 21 países. Fundada en 2007, se dedica a fomentar la creación de redes, el desarrollo de modelos de buenas prácticas y el intercambio de recursos[33].

La red de Organismos Médico-Legales de Asia y el Pacífico reúne a 25 instituciones de 21 países de la región con similares objetivos y funciones. Su sitio web[34] cuenta con una biblioteca digital que alberga diversos protocolos y directrices. Es preciso esforzarse más por desarrollar entidades semejantes que refuercen los sistemas de investigación médico-legal de las muertes en todo el mundo.

La Asociación Latinoamericana de Antropología Forense, que cuenta con el apoyo de la Junta Estadounidense de Antropología Forense, se inició como una asociación de base y se ha convertido en un organismo de acreditación para esta disciplina en América del Sur. Esta evolución excepcional demuestra el potencial de la iniciativa, que podría trasladarse al campo de la medicina legal.

Entre las actividades de la Organización Internacional de Policía Criminal-INTERPOL figuran facilitar la cooperación internacional para identificar a las víctimas de catástrofes y ayudar a las regiones afectadas a obtener el apoyo de médicos forenses y otros especialistas en identificación. Su Guía para la identificación de víctimas de catástrofes revolucionó el enfoque de la identificación de personas en la década de 1980 y sigue siendo la norma hoy en día, especialmente en el caso de los desastres de pequeña y mediana entidad[35]. El documento ha servido de base para la actualización de la sección sobre identificación forense de personas del Protocolo de Minnesota.

Las oportunidades internacionales de llevar a cabo visitas académicas, intercambios y recibir formación, incluidas becas, y desarrollo profesional continuo, son esenciales y provechosas para los profesionales de la criminalística que intervienen en la investigación médico-legal de las muertes, ya sean médicos forenses u otros especialistas, tanto si proceden de entornos en los que abundan los recursos como en los que estos escasean. Varios institutos de medicina legal de todo el mundo facilitan estas oportunidades. Los vínculos bilaterales, como los existentes entre los profesionales de la criminalística de Sri Lanka y el Instituto Victoriano de Medicina legal de Australia, han permitido formar a más de 25 nuevos médicos forenses. Un programa financiado por la beca en patología forense G. Raymond Chang, que ofrece la Universidad de Toronto (Canadá) en cooperación con la Universidad de las Indias Occidentales en

32. Stephen Cordner y Liz Manning, “Professional bodies: rest of the world”, en Encyclopaedia of Forensic and Legal Medicine, segunda edición., vol. 4, Jason Payne-James y Roger Byard, eds. (Elsevier, Amsterdam, 2016).
33. Véase https://redforenseiberoamericana.org/
34. Véase http://theapmla.net.
35. Véase https://www.interpol.int/es/Como-trabajamos/Policia-cientifica/Identificacion-de-Victimas-de-Catastrofes-IVC.

Jamaica, ha contribuido a fomentar la capacidad en materia de patología forense en este último país, incluida la aplicación del Protocolo de Minnesota. Sobre la base de ese programa, la Universidad de las Indias Occidentales se ha convertido en un centro de formación de médicos forenses en la región del Caribe. Por su parte, los médicos africanos muestran un interés considerable por el programa de diploma en medicina legal de los Colegios de Medicina de Sudáfrica. La formación -en instalaciones bien equipadas y a cargo de médicos especialistas forenses- comprende conocimientos sobre los aspectos prácticos de la legislación sudafricana, que permite a los médicos forenses trabajar de forma independiente y puede servir de referencia para la reforma legislativa en otros países.

La cooperación internacional, incluida la cooperación Sur-Sur y bilateral, también entre las ONG, desempeña un papel cada vez más importante en el desarrollo de la capacidad de investigación médico-legal de las muertes, como puede apreciarse en algunos países latinoamericanos. El Equipo Argentino de Antropología Forense fue fundado por un grupo de estudiantes tras la caída de la dictadura militar en 1983, para investigar los casos de desapariciones forzadas y ejecuciones extrajudiciales perpetradas por el régimen militar. El Equipo, cuya capacitación inicial se llevó a cabo con el apoyo de la Asociación Estadounidense para el Progreso de la Ciencia, contribuyó a promover el uso de la antropología forense en la investigación de las violaciones de los derechos humanos, en particular las desapariciones seguidas de muertes ilícitas. Asimismo, contribuyó a la elaboración de mejores prácticas forenses, incluida una sección del Protocolo de Minnesota sobre la recuperación y el análisis de restos óseos, y ofrece actualmente asesoramiento y formación en todo el mundo a diversas partes interesadas en la investigación médico-legal de las muertes. Entre otros ayudó, con el apoyo del CICR, a crear la Escuela Africana para la Acción Forense Humanitaria.

El Equipo Argentino de Antropología Forense es también un ejemplo destacado del potencial de las iniciativas de las ONG y las organizaciones comunitarias. Estas son importantes y requieren apoyo externo para sobrevivir. La Comisión Internacional de Juristas también promueve el Protocolo de Minnesota[36], ofrece formación especializada en varias regiones y ha elaborado un valioso manual al respecto.

El CICR es la primera organización internacional que se ha dotado de capacidad forense propia para apoyar sus actividades humanitarias. En la actualidad, esta organización emplea a más de 100 expertos forenses en todo el mundo, entre otras cosas con miras al fomento de la capacidad en materia de recuperación e identificación de las personas fallecidas en conflictos armados y catástrofes. Parte de la formación forense impartida por el CICR se basa en el Protocolo de Minnesota, a cuya actualización ha contribuido. La Comisión Internacional sobre Personas Desaparecidas, hoy una organización intergubernamental, surgió inicialmente como una ONG destinada a contribuir a la identificación, en particular a la identificación por el ADN, de los desaparecidos en la ex-Yugoslavia. También ayuda a localizar, recuperar e identificar a los desaparecidos, y se esfuerza por crear capacidad forense que contribuya a recuperar e identificar a los desaparecidos o muertos en conflictos armados.

En los entornos en los que escasean los recursos, en particular en las zonas periféricas, con frecuencia se requiere innovación y creatividad para que la investigación médico-legal de las muertes arroje resultados fiables. En Zambia, el único médico forense plenamente cualificado se encuentra en la capital -Lusaka- y debe atender todo el país. En consecuencia, se ha establecido una práctica para garantizar que el especialista pueda intervenir en la investigación de las muertes en zonas remotas[37]. Cuando alguien muere en circunstancias sospechosas lejos de Lusaka, el cuerpo se entierra para asegurar su protección mientras se espera la autopsia (se trata de un

36. Comisión Internacional de Juristas, Investigación y enjuiciamiento de muertes potencialmente ilícitas. Guía para profesionales, núm. 14 (Ginebra, 2019).
37. Luchenga Mucheleng'anga and others, “Forensic exhumations and autopsies in Zambia, Africa”, Forensic Science International: Reports, vol. 4 (noviembre de 2021).

medio relativamente eficaz de conservación del cadáver en esas circunstancias), hasta que puedan acudir el médico forense o uno de los tres médicos a tiempo parcial que trabajan bajo su supervisión. Entonces, se exhuma el cuerpo en presencia del médico y se procede a la autopsia en el lugar, respetando lo más posible las normas aplicables.

4.7 CONCLUSIÓN.

En 1902, el profesor Harvey Littlejohn, médico forense de Edimburgo (Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte), pronunció un discurso del que vale la pena citar un fragmento: "*El hecho que, en este época de avances y en un país progresista y humanista, la ley todavía permita que un examen post mortem*[38] *se encargue a cualquier médico, sin tener en cuenta en modo alguno sus conocimientos, experiencia previa o capacidad para llevar a cabo esa tarea, suscitaría el ridículo si no se tratara de un tema que requiere seria reflexión. En otras palabras, mientras que todos, cuando estamos enfermos, procuramos acceder a la opinión más competente y a la persona que, por haber emprendido estudios especializados, es la más cualificada en una rama particular de la medicina para tratar nuestro caso u operarnos, cualquier médico sirve, con independencia de sus cualificaciones o experiencia, cuando lo que debe determinarse no afecta sino a la libertad, o quizás la vida, de un tercero, y aunque las cuestiones que se plantean no sean menos difíciles y su elucidación también requiera formación y experiencia especializadas*"[39].

Si esta observación era pertinente en 1902, lo es aún más en la actualidad, y el presente artículo enumera muchos más problemas que es preciso resolver. La investigación médico-legal de la muerte, incluida la medicina forense, requieren poca inversión por parte de los Estados y de la comunidad internacional, y pueden lograr resultados importantes en materia de justicia y salud pública, en comparación con la inversión global en ambos ámbitos. Es posible dotar a las comunidades de sistemas que lleven a cabo investigaciones médico-legales de las muertes rápidas, eficaces, exhaustivas, independientes, imparciales y transparentes, y dotados de profesionales competentes que trabajen en condiciones que les permitan determinar la identidad de las personas que puedan haber sido víctimas de una muerte ilícita, así como la causa y la forma de su muerte; no se requiere más que la voluntad y el compromiso efectivos de parte de los Estados y sus Gobiernos para para hacer de ello una realidad y cumplir así con sus obligaciones internacionales.

4.8. RECOMENDACIONES.

4.8.1. Recomendaciones a los Estados:

• El deber de los Estados de investigar la causa y la forma de toda muerte potencialmente ilícita de forma rápida, exhaustiva, eficaz, independiente, imparcial y transparente es inherente al derecho a la vida. Esta obligación se aplica a todas las muertes potencialmente ilícitas, sin distinción de ningún tipo. Los Estados deben para ello asegurar que todas las investigación médico-legal de muertes potencialmente ilícitas se lleven a cabo de conformidad con los principios y normas establecidos en el Protocolo de Minnesota sobre la Investigación de Muertes Potencialmente Ilícitas.

• Los Estados deben garantizar la profesionalidad y fiabilidad de la investigación de todas las muertes potencialmente ilícitas, y promover la confianza de la población a ese respecto, velando por que los sistemas encargados de su realización sean plenamente independientes y que sus servicios cuenten con adecuados controles y garantías de calidad y confiabilidad.

• Los Estados deben velar por que las leyes por las que se rige toda investigación médico-

38. Es decir, la autopsia.
39. Harvey Littlejohn, "Medico-legal post-mortem examinations", The Lancet, vol. 161, núm. 4152, marzo de 1903 (ponencia leída ante la Medico-legal Society el 9 de diciembre de 1902).

legal de muertes potencialmente ilícitas estén actualizadas y recojan las normas internacionales pertinentes, incluidas las del Protocolo de Minnesota. La legislación debe ajustarse a las normas internacionales correspondientes y determinar de manera acorde los deberes y las funciones de los médicos forenses de manera que estos puedan ejercer plenamente sus competencias profesionales, con arreglo a las normas internacionales y en el interés superior de la calidad y fiabilidad de la investigación, sin presiones ni condiciones indebidas.

• Los Estados deben proteger a los profesionales que intervienen en la investigación médico-legal de las muertes de presiones e injerencias indebidas. Ello puede lograrse, entre otras cosas, creando entidades que apoyen, promuevan y velen por el buen funcionamiento de los servicios de medicina legal y forenses. Una entidad de este tipo debe poder también promover la homologación de estándares, el fortalecimiento de los servicios y llamar a la atención de las autoridades e incluso del Gobierno y de las demás autoridades competentes cuando sea necesario sobre las necesidades de los servicios de medicina, clínica y ciencias forenses a fin de que los mismos sean debidamente atendidos.

• Los Estados deben garantizar que se investiguen todas las muertes potencialmente ilícitas, con independencia de si el fallecido ha sido identificado o no, y que la investigación médico-legal de la muerte incluya el deber de identificar al difunto, tal y como prescribe el Protocolo de Minnesota.

• Hasta no ser fehacientemente identificadas las personas fallecidas constituyen personas desaparecidas. Los Estados deben velar por que se tomen todas las medidas posibles para identificar los cadáveres o los restos objeto de investigación. Cuando la identificación no sea posible en el momento de la investigación, deberían establecerse procedimientos que contribuyan a su identificación futura. En consecuencia, los cadáveres no identificados ni reclamados deberían documentarse adecuadamente y protegerse con el respeto debido. Los cadáveres no identificados no deben incinerarse ni enterrarse en fosas comunes en las que pueda perderse el rastro de su paradero.

• Los Estados deben garantizar que los sistemas de investigación médico-legal de la muerte cuenten con los recursos y el personal adecuados para seguir las mejores prácticas, incluidas las establecidas en el Protocolo de Minnesota, y que redunden en la mayor utilidad pública posible en lo que respecta a promover y proteger los derechos humanos, la justicia y la salud pública.

• Los Estados deben velar por que el funcionamiento de sus sistemas de investigación médico-legal de la muerte se rija por las normas más estrictas posibles, entre otros mediante la aplicación de procesos de gestión y aseguramiento de la calidad, como los sistemas de revisión por pares, certificación y acreditación.

• Al reformar la organización y las funciones de los sistemas de investigación médico-legal de la muerte, los Estados deben considerar la posibilidad de recurrir a expertos y expertas externos, incluyendo extranjeros, de reconocida trayectoria profesional e integridad, que puedan formular opiniones y recomendaciones con base empírica, independientes e imparciales.

• Debe permitirse siempre y exigirse que la investigación médico-legal de la muerte proceda con la debida diligencia, especialmente en todos los casos de muertes potencialmente ilícitas. En tal sentido, debe permitirse a los médicos forenses y demás profesionales reunir cualquier prueba que, en su opinión, pueda resultar pertinente para dicha investigación. Estos deberían poder comunicarse al respecto con los familiares del fallecido y los testigos pertinentes y ordenar que se realicen las pruebas que consideren necesarias para la investigación. Debería solicitarse la opinión del médico forense sobre la necesidad de realizar una autopsia o investigación post mortem y, en la medida de lo posible, seguirla. Esta opinión debería basarse en la información de la investigación de que disponga el médico forense tras acudir al lugar de los hechos, estudiar las fotografías de este, realizar un examen externo del cuerpo o

proceder a otras indagaciones con miras a contar con elementos para tomar esa decisión. Cualquier desacuerdo con la decisión del médico forense debería justificarse y documentarse debidamente. No debería haber impedimentos para que el médico forense acceda a la información necesaria para determinar la identidad del fallecido y la causa y la forma de la muerte.

• La investigación médico-legal de la muerte es responsabilidad del Estado. Los familiares del fallecido no deben asumir el costo de la misma. Los Estados deben garantizar que existan mecanismos legales, de procedimiento y administrativos para que los deudos reciban la información adecuada sobre su familiar fallecido de parte de un médico forense capaz de explicar con solvencia la autopsia y sus resultados, como establece el Protocolo de Minnesota.

• Se debe permitir a los familiares cercanos del fallecido que participen efectivamente en la investigación (sin poner en peligro su integridad), contribuyan a ella y tengan la posibilidad de hacerse representar en la autopsia. Debe siempre informarse de manera oportuna y adecuada a los familiares y parientes cercanos acerca de la identidad de su ser querido fallecido, sobre la investigación, sus avances y sus resultados.

• Debe respetarse siempre el derecho de las familias a dar sepultura a los cuerpos o restos mortales de sus seres queridos según sus creencias. Debe protegerse a los familiares y parientes cercanos de cualquier amenaza que resulte de su participación en la investigación.

• Los médicos forenses y demás profesionales encargados de investigar las muertes potencialmente ilícitas deberían ser conscientes de las cuestiones de género que pueden repercutir en la calidad de su trabajo, la fiabilidad de sus conclusiones y su interacción con las víctimas, y tenerlas en cuenta. La formación sobre la investigación y documentación forenses de la violencia de género, incluido el feminicidio, debería promoverse y apoyarse, e impartirse a los profesionales con carácter prioritario.

• Los Estados deben proteger la seguridad en general y la seguridad y salud en el trabajo de los médicos forenses y del personal de apoyo científico y técnico que interviene en la investigación médico-legal de las muertes, así como la seguridad de sus familiares.

• Los Estados deberían velar por que los médicos forenses y demás personal que intervienen en la investigación médico-legal de las muertes tengan acceso a instalaciones médicas forenses idóneas y debidamente equipadas. Como mínimo, estas instalaciones deben contar con electricidad, agua corriente, refrigeración y ventilación, y un nivel de higiene comparable al de un hospital. Las instalaciones deberían tener una entrada independiente y una recepción para las personas ajenas al personal, duchas para el personal, oficinas y un lugar para reunirse con los familiares.

• Los médicos forenses son especialistas. Los Estados deberían velar por que estos reciban una remuneración al menos equivalente a la de otros médicos especialistas de su mismo nivel.

• Los Estados deberían garantizar que los médicos forenses y los demás profesionales que se encarguen de la investigación médico-legal de la muerte tengan acceso a los servicios especializados disponibles, entre otros de: antropología forense, odontología forense, neuropatología, histología, toxicología, microbiología, bioquímica, entomología, balística y análisis de armas de fuego, ADN, huellas dactilares, pelo y fibras y manchas de sangre. Los servicios de radiología, especialmente las tomografías computarizadas, pueden complementar la información que se obtiene de las autopsias.

• Si bien el acceso a los servicios especializados es esencial para la medicina legal y la investigación médico-legal de las muertes, este debería considerarse en el contexto más amplio de la gobernanza de la criminología y la medicina legal de un país, así como de la necesidad de contar con servicios rentables, sostenibles e independientes. La decisión final dependerá en gran medida del sistema de gobierno de los países y de la disponibilidad de recursos, que suelen ser

escasos. También debería tenerse en cuenta la posibilidad de recurrir a la cooperación internacional, incluida la asistencia de organismos especializados como las Naciones Unidas.

• Es altamente probable que las conclusiones de los médicos que carecen de la formación y capacitación especializadas necesarias para investigar las muertes potencialmente ilícitas no sean fiables y que puedan, por tanto, contribuir en última instancia a errores en la justicia, incluyendo la impunidad de los autores de homicidios. Por consiguiente, los Estados deberían disponer que solo se autorice a realizar autopsias a los médicos que cuenten con la formación, la capacitación y la certificación pertinentes. Este requisito debería aplicarse de forma progresiva y en un plazo adecuado para evitar que dé lugar a una acumulación de casos atrasados.

• Los Estados deberían garantizar que las facultades de medicina o las instituciones de formación médica de postgrado formulen programas de postgrado, investigación y formación continua en medicina legal en estrecha colaboración con los servicios médicos forenses, para asegurar que los alumnos puedan adquirir experiencia práctica y acceder a oportunidades de investigación durante sus estudios.

• Dado que la medicina legal y otras especialidades necesarias para la investigación médico-legal de las muertes son disciplinas relativamente poco difundidas, y dado que muchos Estados carecen de departamentos académicos o institutos de formación en esos campos, deberían concebirse soluciones regionales o internacionales, que cuenten con el apoyo de la comunidad internacional. Estas soluciones deben comprender periodos considerables de formación directamente supervisada en la práctica profesional y en la investigación científica aplicada relacionada con la investigación de las muertes, que incluya la puesta en práctica de las normas pertinentes, como el Protocolo de Minnesota. Deberían aprovecharse y fomentarse las oportunidades de aprendizaje en línea que puedan resultar de utilidad.

• Los Estados deberían promover sistemas de investigación médico-legal de la muerte que funcionen en el marco de un ciclo en que la práctica profesional se combina con la docencia y la investigación y estos tres elementos se refuerzan mutuamente. Ese ciclo contribuye a mantener una oferta de médicos forenses y personal científico cualificados y motivados.

• La obligación de investigar las muertes potencialmente ilícitas es inherente al deber de los Estados de proteger el derecho a la vida. Los Estados son responsables de la prestación independiente, imparcial y transparente de servicios de investigación médico-legal de la muerte competentes, rápidos y fiables. La desregulación y privatización de estos servicios pueden dar lugar a la ausencia de una investigación fiable de las muertes ilícitas. Deben adoptarse medidas para impedir que esto suceda.

• Los Estados y la comunidad internacional deberían promover y apoyar la cooperación internacional, incluida la cooperación Sur-Sur, para reforzar la investigación médico-legal de las muertes y aumentar el conocimiento y la aplicación de las normas internacionales pertinentes, incluidos los Principios relativos a una Eficaz Prevención e Investigación de las Ejecuciones Extralegales, Arbitrarias o Sumarias y el Protocolo de Minnesota.

4.8.2. Recomendaciones a las Naciones Unidas

· El ACNUDH debería considerar la posibilidad de dotarse de capacidad interna en medicina legal que contribuya a sus actividades, entre otros con miras a la promoción y la aplicación de normas como los Principios y el Protocolo de Minnesota. Entre los objetivos para dotarse de esa capacidad podría contarse recurrir a sus propios expertos para apoyar la labor de los mecanismos de derechos humanos de las Naciones Unidas, el ACNUDH y los Estados que investigan violaciones de los derechos humanos o que requieren asesoramiento o asistencia técnica en dichas esferas, incluido el fomento de la capacidad.

• En su informe actualizado de 2007 sobre los derechos humanos y la ciencia forense (A/HRC/4/103), el ACNUDH reconoció que su capacidad en materia forense seguía siendo limitada y recomendó su fortalecimiento.

• Reforzar la capacidad forense del ACNUDH podría mejorar significativamente su posibilidades de proporcionar rápidamente apoyo y asesoramiento de calidad en la materia, entre otras cosas mediante las siguientes actividades: a) La prestación de asistencia a los mecanismos de derechos humanos de las Naciones Unidas y a las operaciones sobre el terreno del ACNUDH en su investigación de las violaciones de los derechos humanos, como las muertes ilícitas, la tortura y la violencia de género, incluidos los programas de despliegue rápido; b) La formación del personal pertinente, incluido el personal sobre el terreno del ACNUDH sobre los principios y las aplicaciones de la criminalística y la puesta en práctica de las normas pertinentes, incluido el Protocolo de Minnesota; c) La redacción de directrices y manuales para diferentes tipos de usuarios; d) La concepción de módulos de asistencia técnica en materia forense para los Estados, incluida la documentación e investigación de las violaciones de los derechos humanos; e) La creación de redes sólidas de expertos e instituciones forenses que puedan prestar asistencia en diferentes partes del mundo a las actividades del ACNUDH y de otras entidades del sistema de las Naciones Unidas encaminadas a proteger y promover los derechos humanos; f) La optimización de las condiciones para la contratación ágil y eficiente de expertos forenses; g) La prestación de asesoramiento y asistencia para el análisis forense de casos complejos; h) El desarrollo de protocolos de aseguramiento y control de la calidad de los servicios forenses contratados por el ACNUDH.

• Las Naciones Unidas, en particular la UNODC, la Organización Mundial de la Salud, el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo y el ACNUDH, deberían aumentar su asistencia técnica a los Estados miembros en materia de investigación médico-legal de las muertes mediante la elaboración de normas técnicas, el suministro de formación y equipos, la asistencia legislativa y el apoyo a las redes regionales, así como el fortalecimiento institucional.

• La UNODC debería considerar la posibilidad de abordar la relación entre la policía, la fiscalía y la medicina legal en los programas de apoyo al estado de derecho y la reforma de la justicia penal y en la asistencia centrada en las investigaciones penales, en consonancia con los Principios y el Protocolo de Minnesota.

4.8.3. Recomendaciones a entidades privadas:

• Las organizaciones privadas, incluyendo donantes, deberían considerar la posibilidad de proporcionar financiación y otras ayudas para mejorar las capacidades en medicina legal de los países de bajos y medianos ingresos. Es necesario apoyar, en particular, el desarrollo de programas de formación especializada en medicina legal, incluidas becas de 12 meses más en países en los que ya existan estos programas y oportunidades de formación. También es preciso apoyar la concepción y el establecimiento de instalaciones forenses adecuadas y la prestación de asesoramiento técnico sobre la organización y la prestación de los servicios. Los donantes también podrían considerar la posibilidad de apoyar a organizaciones regionales, instituciones de investigación médico-legal de las muertes y universidades.

• Deben crearse y promoverse oportunidades de recibir becas y cursar periodos considerables de formación y capacitación supervisadas en centros de renombre. Los Estados que tengan la posibilidad de hacerlo deben también ofrecer estas oportunidades.

4.8.4. Recomendaciones a las instituciones de investigación médico-legal de la muerte y el mundo académico:

Las instituciones de investigación médico-legal de la muerte deberían crear entornos de trabajo,

políticas y procedimientos operativos que permitan llevar a cabo dicha investigación de forma ética, de conformidad con el Protocolo de Minnesota.

Todos quienes intervienen en la investigación médico-legal de la muerte deben seguir una formación multidisciplinaria que permita comprender las funciones, los mandatos, las contribuciones y las limitaciones de cada servicio de investigación médico-legal de las muertes, para poner ofrecer sistemáticamente el mejor resultado a las víctimas, sus familiares y las comunidades, tal como exigen las normas internacionales, incluidos los Principios y el Protocolo de Minnesota.

Las instituciones de investigación médico-legal de la muerte deberían considerar la posibilidad de intercambiar, quizás a través de sus asociaciones regionales, documentos que detallen sus protocolos y procedimientos operativos estándar. Las asociaciones regionales deberían considerar la posibilidad de determinar las mejores prácticas y promoverlas.

Las instituciones de investigación médico-legal de la muerte y las universidades que cuentan con programas de medicina legal autónomos deberían considerar la posibilidad de desarrollar programas de formación que puedan ser útiles para los médicos y otros profesionales de la criminalística de países con sistemas de investigación médico-legal de las muertes similares. Los programas reputados deberían servir de referencia para garantizar el respeto de ciertos criterios.

Las instituciones de investigación médico-legal de las muertes deberían sensibilizar o proporcionar formación a la judicatura, la fiscalía y la policía sobre la función y la contribución de los profesionales de la medicina legal.

4.8.5. Recomendaciones finales:

Los mecanismos nacionales regionales e internacionales de derechos humanos deben hacer hincapié en la obligación de los Estados de investigar exhaustivamente todas las muertes potencialmente ilícitas, de conformidad con los Principios de Naciones Unidas sobre la Prevención e Investigación Eficaces de las Ejecuciones Extralegales, Arbitrarias o Sumarias y el Protocolo de Minnesota, y en la importancia fundamental de contar para ello con la necesaria capacidad médico-legal y forense ajustados a dichos estándares. Urge para ello, en todo el mundo, una mayor inversión de parte de los Estados en sus sistemas médico-legales y forenses.

CONFLICTO DE INTERESES.

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

5. BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA.

1. *Protocolo de Minnesota sobre la Investigación de Muertes Potencialmente Ilícitas*. Disponible en: https://www.ohchr.org/sites/default/files/Documents/Publications/MinnesotaProtocol_SP.pdf Visitado en mayo 2023

2. *Investigación médico-legal de las muertes*, A/HRC/50/34, Disponible en: https://documents-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/G22/382/90/PDF/G2238290.pdf?OpenElement Visitado el 1 de mayo 2023

3. *Comité de Derechos Humanos, observación general núm. 36 (2018), relativa al derecho a la vida* (CCPR/C/GC/36) Disponible en: https://documents-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/G19/261/18/PDF/G1926118.pdf?OpenElement Visitado en mayo 2023

4. *Strengthening Forensic Science in the United States: A Path Forward* (Washington, D.C., 2009) Disponible en: https://www.ojp.gov/pdffiles1/nij/grants/228091.pdf Visitado en mayo 2023

5. Comisión Internacional de Juristas, *Investigación y enjuiciamiento de muertes potencialmente ilícitas*. Guía para profesionales, núm. 14 (Ginebra, 2019).Disponible en: https://www.icj.org/wp-content/uploads/2020/04/Universal-PG-14-Unlawful-death-Publications-Reports-Practitioners-Guides-series-2020-SPA.pdf Visitado en mayo 2023

SETAS CON AMATOXINAS EN GALICIA: PERSPECTIVA TOXICOLÓGICA, CLÍNICA Y MÉDICO-LEGAL.

AMATOXIN-CONTAINING MUSHROOMS IN GALICIA: TOXICOLOGICAL, CLINICAL AND MEDICO-LEGAL PERSPECTIVE.

SERRULLA BLANCO, M.[1]

RESUMEN.
INTRODUCCIÓN: Las intoxicaciones por setas son cada vez más frecuentes, aunque la mayoría son leves. Clásicamente en torno al 90-95% de las letales, las amatoxinas están involucradas en el mecanismo patogénico presentando una letalidad del 1-15%. Estas alteran la síntesis proteica con un alto tropismo hepatorrenal y resistencia a la desnaturalización. El tratamiento se basa en la disminución de la absorción, depuración, antidototerapia y trasplante hepático. Galicia, un pueblo clásicamente micófobo, experimenta un creciente interés por la micofagia desde el siglo pasado, lo que hoy implica un riesgo incrementado de intoxicación. MATERIAL Y MÉTODOS: Se realiza una búsqueda bibliográfica estructurada en PubMed y Google Scholar con criterios generales y específicos y se clasifican en 4 bloques principales, sobre los cuales se aplica la síntesis. RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Estas setas son principalmente de los géneros *Amanita*, *Galerina* y *Lepiota*, *A. Phalloides* es la mayor responsable de estos cuadros. Se estima que entre un 1.26%-8.95% de los micetismos son producidos por amatoxinas, con una letalidad de entre el 1.05%-13.04%. El mecanismo inhibitorio de la RNA polimerasa II puede no ser el principal involucrado en la hepatotoxicidad (autofagia, apoptosis...). Tras la identificación precoz, técnicas como el MARSA / FPSA han demostrado alta probabilidad de ser eficaces, la combinación de antídotos más adecuada debe incluir un inhibidor del OATPB3 junto con NAC, y el trasplante hepático precoz bajo criterios King College parece ser el más eficaz. CONCLUSIONES: El diagnóstico precoz es el punto clave pronóstico. Los antídotos actuales presentan un grado importante de consenso aunque, en base a los avances en la toxicodinámica actuales, es posible que surjan nuevas dianas en el futuro. En Galicia existe una tendencia incremental en estas intoxicaciones. No existe una correlación directa entre hábitat y epidemiologia, probablemente debido a motivos culturales y demográficos.

PALABRAS CLAVE: AMATOXINA, AMANITINA, AMANITA PHALLOIDES, GALICIA, MICETISMO, INTOXICACIÓN, ESPAÑA.

ABSTRACT.
INTRODUCTION: Mushroom poisoning is becoming more frequent, although most are mild. Classically around 90-95% of the lethal ones, amatoxins are involved in the pathogenic mechanism, presenting a lethality of 1-15%. These ones disturb protein synthesis showing a high hepatorenal tropism and resistance to denaturalization. Treatment is based on limiting absorption, clearance, antidotal therapy, and liver transplantation. Galicia, a classically mycophobic community, has experienced a growing interest in mycophagy since the last century, which today implies an increased risk of poisoning. MATERIAL AND METHODS: A structured bibliographic search is carried out in PubMed and Google Scholar with general and specific criteria and they are classified into 4 main blocks, on which the synthesis is applied. RESULTS AND DISCUSSION: These mushrooms are mainly the genera *Amanita*, *Galerina* and *Lepiota*, *A. Phalloides* being the most responsible for these conditions. It´s estimated that between 1.26%-8.95% of micetisms are due to amatoxins, with a lethal rate of about 1.05%-13.04%. The inhibitory mechanism of RNA polymerase II may not be the main one involved in hepatotoxicity (autophagy, apoptosis...). After early identification, techniques such as MARSA / FPSA have shown a high probability of being effective. The most appropriate combination of antidotes should include an OATPB3 inhibitor together with NAC, and early liver transplantation under KingCollege criteria seems to be the most effective ones. CONCLUSIONS: Early diagnosis is the key prognostic point. Current antidotes present a significant point of consensus although, based on current advances in toxicodynamics, new targets may emerge in the future. In Galicia there is an increasing trend in these poisonings. There is no direct correlation in terms of habitat and epidemiology, probably due to cultural and demographic reasons.

KEY WORDS: AMATOXIN, AMANITIN, AMANITA PHALLOIDES, GALICIA, MICETISM, POISONING, SPAIN.

CONTACTO: misebla@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN.

Dentro del reino *Fungi* encontramos gran variedad de organismos que están presentes en nuestro día a día y que utilizamos tanto para hechos tan simples como fabricar cerveza, queso o pan, como para producir antibióticos que han salvado millones de vidas, antisépticos e incluso fármacos antitumorales. Sin embargo, existen también aspectos perjudiciales, ya que muchos hongos poseen toxinas letales, o son capaces de proliferar y dañar a otros organismos. Las intoxicaciones por la ingesta de setas o micetismos han sido históricamente un

1. Graduado en Enfermería y Medicina por la Universidad de Santiago de Compostela (USC). Máster en cuidados críticos – Especialidad clínica (MASXC) por la Universidad de Santiago de Compostela.

tema recurrente. Uno de los casos más célebres fue el del asesinato del emperador romano Claudio a manos de su esposa Agripina en un banquete que incluía un jugo extraído de *Amanita Phalloides*. Más recientemente han sido destacables otras intoxicaciones letales como la del Papa Clemente VII en 1534, cuando en su bosque privado recogía por error numerosos ejemplares de *A. Phalloides*, o la del compositor J. Schobert, que murió con toda su familia en París a los 33 años en una intoxicación colectiva (1) (2).

Las interacciones patológicas entre los hongos y los humanos pueden producirse de múltiples formas. Desde un punto de vista clínico, se pueden clasificar en dos grandes grupos: las micotoxicosis y los micetismos. Las primeras son producto de la ingesta de alimentos no fúngicos sobre los cuales crece algún tipo de hongo, mientras que los micetismos son las intoxicaciones que se producen por la intesta del propio cuerpo o esporas de un hongo que ha crecido en un medio natural (1).

En cuanto a los micetismos, a su vez existen dos visiones principales de su clasificación: la perspectiva micotoxicológica y la clinicotoxicológica. La primera y más ampliamente utilizada fue propuesta por Spoerke y Rumack en 1994 e incluye 7 grupos en función de la toxina responsable: Las amatoxinas (ciclopéptidos), las orellaninas (cortinarinas), las giromitrinas (monometilhidracina), la muscarina, el ácido iboténico, la psilocibina y las coprinas. Por otra parte la segunda, mucho más utilizada a nivel médico, incluye una clasificación en función del órgano o sistema diana afecto, que da lugar a 6 grupos de intoxicación: las hepatotóxicas (amatoxinas), nefrotóxicas (orellaninas), neurotóxicas (psilocibinas, muscimol, ácido iboténico), miotóxicas/rabdomiolíticas (ácido carboxílico), endocrino-metabólicas (giromitrinas y coprinas), gastrointestinales, y las mixtas o nuevos síndromes (dermatitis por shiitake, reacciones eritromelalgia-like o el síndrome por paxillus). Esta última es más completa, ya que incluye reacciones e intoxicaciones como el síndrome paxillus (un cuadro infrecuente de anemia hemolítica inmunomediada) o la dermatitis flagelada por shiitake (una toxicodermia todavía hoy con una etiología incierta), descritas recientemente. Existe también una clasificación sindrómica en función de la sintomatología y su latencia, sin embargo, es la única que carece de un componente toxicológico, por lo que su uso es más restringido a guías de práctica clínica, y algoritmos de decisión terapéutica (3) (4).

Se estima la existencia de 140.000 especies de setas diferentes en la tierra. De ellas apenas han sido catalogadas en torno a 14.000 y, de estas últimas, se han descrito como comestibles en torno a 7.000 (aunque la mayoría sin un interés culinario). Solo 2.000 son consideradas como seguras y apenas 200-300 se consumen con asiduidad. Por otra parte, en torno a otras 200-300 setas se reconocen como tóxicas para el ser humano, algunas de las cuales incluso han sido utilizadas con fines farmacológicos, componiendo un grupo de casi 700 especies las que pueden llegar a poseer dichas propiedades. Sin embargo, de ese pequeño grupo de 200-300 setas que habitualmente se emplean a nivel culinario, muy pocas son comercializadas a gran escala en supermercados, pero su interés gastronómico por ellas ha ido en notable aumento las últimas décadas (4) (5). Debido a esto, la recolección y consumo recreativo de setas es una práctica cada vez más común en muchas sociedades, lo que ha generado a su vez un significativo incremento en el número de intoxicaciones accidentales (6).

Si bien los datos sobre estas intoxicaciones son muy variables, por la poca evidencia publicada, se sabe que la mayoría de ellas son producidas por setas de baja toxicidad, y una gran parte nunca llega a identificarse el tipo de seta, ya que es muy frecuente que los pacientes hayan ingerido numerosas especies diferentes. Aun así, las setas con amatoxinas, tanto en su consumo aislado como mixto, son las principales responsables de las muertes por consumo accidental (90-95% del total de fallecidos), resultando actualmente letales en torno al 35% de los casos sin tratamiento y en torno a un 5-10% con los tratamientos disponibles actualmente según varios registros (7).

En el mayor registro actualizado en 2021

(EE.UU.), de los 7.514 casos registrados, tan solo 95 (1.26%) se debieron a intoxicaciones por setas con amatoxinas, siendo el 68.29% intoxicaciones por setas desconocidas (8). Sin embargo, cabe destacar que la incidencia de intoxicaciones por amatoxinas es notablemente inferior en Estados Unidos que en la región europea y que no todas las intoxicaciones por setas con amatoxinas son identificadas y clasificadas como tal.

A nivel español existe mucha menos información epidemiológica al respecto de estas intoxicaciones. Uno de los pocos registros a gran escala que desglosa las setas hepatotóxicas proviene del Dr. Josep Piqueras realizado entre 1982-1997 en el que se informan 166 intoxicaciones (64.4% Amanitas, 20.5% Lepiotas, 1.2% Galerinas) con una tasa de letalidad del 7.2% (9). Hoy en día se estima que la tasa de letalidad para intoxicaciones por amatoxinas se sitúa entre el 1%-15%, según varias series (10). Según información del Servicio de Información Toxicológica (SIT), se estima que en España ocurren en torno a 200-400 intoxicaciones por setas anualmente, de las cuales 100-200 requieren ingreso hospitalario; de esta cifra de ingresos, aproximadamente un 30% (30-60 intoxicaciones) se deben a síndromes ciclopeptídicos confirmados y no confirmados, de lo que se extrae que aproximadamente un 15% del total de intoxicaciones se deben a intoxicaciones por setas con amatoxinas, dato significativamente superior al registro americano mencionado anteriormente (11).

Las amatoxinas son el principal tóxico presente en los hongos de alta toxicidad y son las principales responsables del antiguamente denominado síndrome faloidiano (al que hoy se le prefiere denominar síndrome ciclopeptídico) (1). No obstante, también las virotoxinas (únicas exclusivas de la *A. Virosa*), las falolisinas y las falotoxinas suelen aparecer asociadas a ellas y contribuyen a su potencial lesivo, por mecanismos muy similares a las primeras. De los 9 subtipos de amatoxinas existentes, hoy conocemos que son las α-amatoxinas y β-amatoxinas las que más implicación tienen en la hepatotoxicidad aguda. Estas actúan como inhibidores de la ARN polimerasa II, deteniendo la síntesis proteica celular a nivel nuclear (6).

Lo más relevante a nivel clínico de estos polipéptidos es que son capaces de producir toxicidad incluso después de ser calentados, congelados o desecados, así como también son resistentes a las secreciones digestivas, lo que los hace especialmente peligrosos (6).

Las setas con alta concentración de amatoxinas principalmente son las de los géneros *Amanita (Amanita phalloides* (Figura 1), *A. virosa y A. verna)*, *Lepiota (L. brunneoincarnata)* y *Galerina (Galerina marginata)* y una especie del género *Conocibe (C. filaris) (6)*. Su consumo comúnmente provoca un cuadro gastrointestinal inespecífico de aparición tardía (6-24 h) con náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal debido a la absorción de las amatoxinas por los enterocitos por un mecanismo todavía desconocido. Tras esta primera fase, se inicia un periodo de pseudo-recuperación que habitualmente suele durar entre 24-36h y, partir de este, es cuando comienza el fallo hepatocelular agudo (2-5 días) que suele ser el responsable del fallecimiento. Estas toxinas son excretadas rápidamente por la orina en gran cuantía tras su ingesta, sin embargo, una pequeña cantidad puede ingresar en la circulación enterohepática y exponer a los hepatocitos de forma continuada, esto último es lo que más se ha relacionado con su alta lesividad (7).

Los tratamientos hoy en día disponibles son limitados y no existe ningún antídoto con eficacia clínica demostrada. En el manejo de la intoxicación se aplican inicialmente medidas de soporte encaminadas a disminuir la absorción y entrada en el hepatocito (lavado gástrico, carbón activo, drenaje biliar, plasmaféresis, aumento de la diuresis) y a reducir la toxicidad hepática con antídotos poco específicos como la Penicilina G benzatina (PEN G), la N-Acetil cisteína (NAC), o silimarina (SIL). En los casos más graves, que presenten un fallo hepático, puede ser necesario el trasplante (12).

Un factor muy importante en la distribución de estas intoxicaciones ha sido el aspecto cultural. Wasson clásicamente describió dos tipos de relaciones de los humanos con la micología: los

FIGURA1: *Amanita Phalloides* en medio natural. Fotografía: Miguel Serrulla Blanco 2022.

pueblos micófilos y los micófobos. Entre estos pueblos micófobos se incluían castellanos, griegos y anglosajones, y entre los micófilos destacaban vascos, catalanes, franceses, italianos y rusos. Sin embargo, esto ha cambiado en los últimos años gracias a los intercambios culturales, el conocimiento universitario creciente sobre hongos silvestres comestibles, y las asociaciones micológicas que aparecen en toda la península (2).

Si bien el consumo de hongos silvestres en Galicia ha tenido una imagen muy desfavorable, llegando a conocerse a estos con nombres como “pan do demo”, “pan do porco”, “pucho de sapo” o “pan de cobra”, en los últimos años Galicia también ha sido una región que ha experimentado este creciente interés por la micofagia. Ya desde la década de los años 40 se iniciaron las primeras investigaciones sobre micología por parte del profesor y catedrático de farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela, el Dr. Mariano Losa España, su hijo el profesor José María Losa Quintana o, ya más recientemente, el Dr. Luis Freire y la Dr. Marisa Castro (13). Hoy en día es una referencia muy importante la Federación Galega de Micoloxía, que ha publicado hasta 22 números de la revista científica Tarrelos, o el Grupo Micolóxico Galego que, a través de la revista Mykes y su web, recopilan información actualizada sobre micología en Galicia, incluyendo un catálogo de setas único en la comunidad (14).

2. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.

El propósito de este trabajo es el de revisar la evidencia actual disponible sobre las intoxicaciones por setas con amatoxinas en un entorno en el que cobran una gran relevancia: donde existe una mayor incidencia de aparición en la naturaleza de estos hongos debido a las características naturales del noroeste peninsular, y donde es frecuente en el momento actual su recolecta y consumo particular. En la Tabla 1 se exponen los principales objetivos de este estudio.

CATEGORIA	OBJETIVOS
PRINCIPALES	— Evaluación de las características toxicológicas de las amatoxinas. — Estudio del estado actual en el manejo clínico de las intoxicaciones por setas con amatoxinas. — Evaluación de las características micológica y botánicas de setas con amatoxinas en el entorno gallego.
SECUNDARIOS	— Resaltar la importancia de los micetismos y su aproximación clínica — Estudio de las intoxicaciones en Galicia.

TABLA 1: Objetivos principales y secundarios del estudio.

3. METODOLOGÍA.

En este trabajo se han utilizado tres software principalmente: Microsoft Office Word (Office 365) como soporte de redacción, GIMP (v.2.10.12) como herramienta para la edicion de imágenes y gráficos, y Microsoft Office Excel para el análisis de datos. Además, también se utiliza la herramienta web de cartografia del Ministerio para la Transicion Ecologica y Reto Demográfico del Sistema de informacion del banco de datos de la naturaleza (BDN).

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica por un solo investigador entre mayo de 2022 y diciembre de 2022. Los dos principales motores de búsqueda utilizados son PubMed y Google Scholar. Sin embargo, también se valoran fuentes accesorias como libros o sitios web que, por recomendación de expertos o alusiones bibliográficas, son incluidas en el curso del estudio.

3.1. ESTRATEGIA POR BLOQUES DE BÚSQUEDA.

Debido a la amplitud y heterogeneidad del propósito a estudio, y aunque la búsqueda general se realice bajo unos criterios unificados antes de la clasificación final, en la estrategia principal del estudio se evalúan las características diferentes en los temas tratados en esta revisión mediante el diseño de bloques de búsqueda. Para ello se aplican unos criterios específicos por cada uno de los bloques, que servirán de guía a lo hora de ser clasificados. Estos estudios son analizados en profundidad en la siguiente fase, donde se aplican criterios de inclusión/exclusión para dar lugar a la selección final. Los bloques contemplados en el estudio, son citados a continuación: Bloque inicial, Bloque de búsqueda dirigida I (amatoxinas y setas), Bloque de búsqueda dirigida II (aspectos clínicos) y Bloque de búsqueda III (aplicación al entorno a estudio), que se desglosan a continuación:

3.1.1. Bloque inicial:

En el bloque inicial se busca como objetivo reunir la información más relevante al respecto con el uso de palabras clave como *amanitin, amatoxin, amanita phalloides, intoxication, poisoning*. El objetivo es realizar una búsqueda lo más amplia posible con evidencia de alta calidad y de carácter general (epidemiológica, conceptos básicos sobre micetismos y amatoxinas, aspectos históricos…) por lo que se decide incluir solamente filtros que seleccionen revisiones sistemáticas y metaanálisis con un amplio rango temporal.

3.1.2. Bloque de busqueda dirigida I: amatoxinas y setas.

En este bloque de búsqueda se focalizan los aspectos más relevantes sobre la toxicocinética/toxicodinamia, campo micológico,

y características moleculares de las amatoxinas. Las palabras clave utilizadas incluyen: *amatoxin, amanitin, Amanita, mushroom, poisoning, OATP1B3,* y *RNA polymerase*. Además, son valorados estudios experimentales, con menor grado de evidencia que en el anterior bloque. El aspecto diferenciador es que aquí se concede mayoe prioridad a la data de la fuente, puesto que se trata de información parcialmente variable temporalmente. En el subapartado micológico es de especial relevancia la consulta de atlas y fuentes no experimentales, donde se recopila información específica de las setas a estudio, así como bases de datos web contrastadas con expertos para la búsqueda de especies de menor relevancia en este ámbito.

3.1.3. Bloque de busqueda dirigida II: aspectos clinicos.

Dada la naturaleza del estudio, en este bloque se concretan los temas relacionados con la epidemiología, diagnóstico y tratamiento de estas intoxicaciones de una forma específica. Las palabras clave utilizadas son: *amatoxin, amanitin, amanita phalloides, poisoning, diagnosis, management, therapy,* y *treatment*. Este es el bloque en el que mayor importancia tiene la evidencia reciente, proveniente tanto de estudios experimentales, como de revisiones o metaanálisis. Debido a los nuevos avances surgidos en los últimos años al respecto, y el gran volumen de información disponible, este es el bloque donde mayor esfuerzo concentra esta revisión.

3.1.4. Bloque de busqueda dirigida III: aplicación al entorno de estudio.

En este último bloque es donde se encuentra la mayor limitación de la evidencia, debido a la poca información disponible al respecto, y donde es más difícil su obtención y análisis. Son igualmente de utilidad bases de datos médicas con una búsqueda dirigida al ámbito nacional, aunque el eje principal gira entorno a libros de micología referidos a Galicia o al norte de la península ibérica…

3.2. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA.

El proceso de búsqueda y selección de estudios es reflejado en la Figura 2, basada en las recomendaciones de las guías PRISMA 2020 (15) para revisiones bibliográficas, adaptado en este caso a la metodología de este trabajo. En este diagrama es representado el compendio de todas las búsquedas realizadas.

Como se observa en el diagrama de flujo adyacente, del total de 161 registros examinados durante la fase de “búsqueda de la evidencia” , procedentes de bases de datos, libros, sitios web o registros, son seleccionados por texto completo o idioma un total de 149 documentos. De estos 149, son excluidos en la fase final de “análisis final, selección y clasificación” bajo los criterios de inclusión/exclusión globales un total de 108 registros, quedando incluidos como bibliografía para este estudio 43 documentos utilizados durante la fase de “redacción” del estudio.

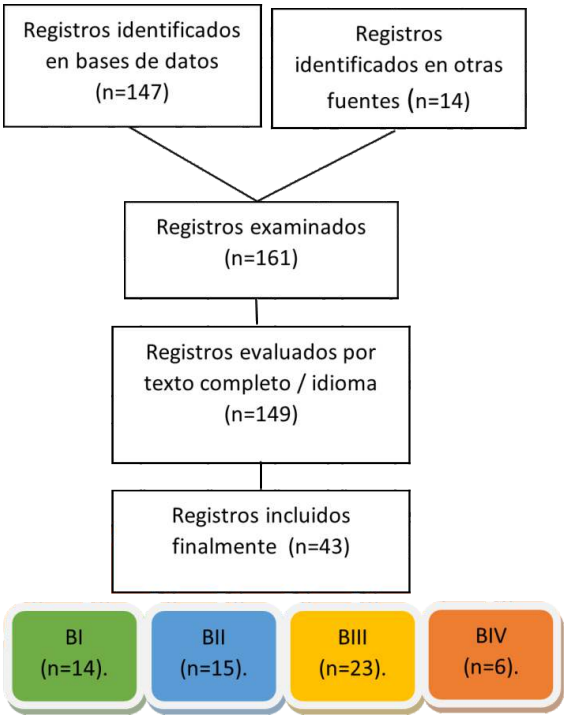


FIGURA 2: Diagrama de flujo del proceso de búsqueda y selección.

Tras el proceso de clasificación de estudios de la "fase de análisis preliminar" y su posterior selección bajo los criterios propuestos, finalmente son incluidos en el Bloque I 14 estudios, 15 estudios en el Bloque II, 23 estudios en el bloque III y 6 estudios en el bloque IV. El sumatorio total de los estudios en cada bloque difiere al número de estudios finalmente seleccionados debido a que existen trabajos que son utilizados en más de in bloque como fuente bibliográfica.

A continuación se plantea el desglose de los tipos de estudios que son incluidos en cada bloque:

- BLOQUE INICIAL: Selección de 14 citas bibliográficas tras la búsqueda, entre las cuales encontramos: 7 revisiones bibliográficas, 1metaanálisis, 1 Ensayo clínico aleatorizado (ECA), 1 tesis doctoral, 2 libros, 1 informe estadístico y una base de datos específica.

- BLOQUE DE BUSQUEDA DIRIGIDA I: AMATOXINAS Y SETAS: Selección de 15 citas bibliográficas, entre las cuales encontramos: 5 revisiones bibliográficas, 1 tesis doctoral, 3 libros, 1 ficha técnica, 1 ECA, 1 base de datos específica y 1 aplicación web de cartografía interactiva.

- BLOQUE DE BUSQUEDA DIRIGIDA II: ASPECTOS CLÍNICOS: Selección de 23 citas bibliográficas, entre las cuales encontramos: 11 revisiones bibliográficas, 1 metaanálisis, 2 estudios de cohortes, 1 guía de actuación y 8 ECA.

- BLOQUE DE BUSQUEDA DIRIGIDA III: APLICACIÓN AL ENTORNO DE ESTUDIO: En este bloque son aplicadas un total de 6 citas bibliográficas, entre las cuales encontramos: 2 libros, 1 base de datos específica, 1 artículo, 1 base de datos oficial y una aplicación web de cartografía interactiva.

3.3. CRITERIOS DE ELIGIBILIDAD.

Los siguientes criterios son tenidos en cuenta desde la perspectiva global. Una vez que cada estudio ha sido asignado a su bloque y revisado en profundidad, el compendio final de trabajos incluidos deberá cumplir dichos criterios.

3.3.1. Criterios de inclusión de artículo:

- MAYORES:
  - Objetivo del estudio en relación a las intoxicaciones por setas con amatoxinas.
  - Actualidad de la referencia: Aunque no se establecen parámetros fijos de búsqueda, se concederá prioridad a los estudios de menos de 10 años de antigüedad, exceptuando de esto a aquellos que hagan referencia a información no variable o cuyo enfoque no esté presente en artículos con mayor actualidad.
  - Acceso libre o con las credenciales institucionales de la Universidade de Santiago de Compostela.
- MENORES
  - Información del estudio en referencia a la zona geográfica de Galicia o norte peninsular.

3.3.2. Criterios de exclusión:

- Temática no relacionada con intoxicaciones de setas que no contengan de forma demostrada (o bien analítica o literariamente) amatoxinas en su composición.
- Texto no disponible en español o inglés.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 ASPECTOS MICO-BOTÁNICOS Y APLICACIÓN A GALICIA.

Como se observa en la Tabla 3, en cuatro géneros taxonómicos se incluyen la mayoría de setas con demostrado contenido en amatoxinas mediante técnicas analíticas. De los 36 hongos citados, 11 pertenecen al género *Amanita*, 16 al género *Lepiota*, 8 al género *Galerina* y tan solo uno al género *Conocybe*. Entre ellos, la mayor relevancia en cuanto a su aparición en la península ibérica tan solo es reconocida a 8: 3 *Amanitas*, 3 *Lepiotas*, 1 *Galerina* y 1 *Conocybe*, que son resaltadas mediante subrayado en la tabla 3 (1) (13). Sin embargo, debido a la distribución, confusiones, concentración de amatoxinas, o frecuencia de aparición, la mayoría no son responsables de intoxicaciones de forma significativa. De esta forma, tampoco todos los tipos de amatoxinas aparecen en todas las especies responsables de estas intoxicaciones.

El género con más importancia clínico-toxicológica es sin duda el *Amanita*. Este comprende como mayores representantes a la *A. phalloides*, *A. Verna* y *A. Virosa*. La primera es, sin duda, la más frecuente en Europa y, en concreto, en el noreste y noroeste de la península ibérica. Se considera la máxima responsable de la mayoría de intoxicaciones en la región gallega, tanto por su abundancia como por su similitud con otras especies comestibles y frecuentes entre las que se encuentran: el género *Agaricus* (en el que se incluye el champiñón común) o, dentro del género *Russula,* la *R. Virescens*), ambos también muy presentes en esta comunidad (1) (16). Por otra parte, las especies *Verna* y *Virosa* (o "destroying angels") son mucho más frecuentes en el continente americano, aunque la *A. Verna* ha sido descrita con asiduidad en los montes gallegos, especialmente en primavera (1).

Amanita	***Lepiota***		***Galerina***	***Conocybe***
- A. Phalloides.	*- L. Rufescens*	*- L. Subincarnata*	*- G sulcipes*	*- Conocybe filaris*
- A. verna Bull	*- L. Castanea*	*- L. Brunneoincarnata*	*- G. Badipes*	
- A. virosa Lamm	*- L. Clypeolarioides.*	*- L. Kühnerii*	*- G. Beinrothii*	
- A. bisporigera Atk	*- L. Griseovirens*	*- L. Langei*	*- G. helvoliceps.*	
- A. teunifolia Murr	*- L. Felina.*	*- L. Xanthophylla.*	*- G. venenata*	
- A. ocreata Peck	*- L. Josserandii*	*- L. Brunneolilacea*	*- G. fasciculata*	
- A. suballiacea Murr	*- L. helveola sensu*	*- L. Heimii*	*- G. marginata*	
- A. capensis	*- L. Pseudohelveola*	*- L. Ochraceofulva*	*- G. autumnalis*	
- A. porrinensis				
- A. decipiens				
- A. hygroscopica.				
- A. magnivelaris.				

TABLA 3: Principales setas con contenido demostrado en amatoxinas clasificadas por género.

La mayor concentración de amatoxinas en la *A. phalloides* se encuentra en el sombrero, las láminas y el anillo, siendo la volva y el pie, zonas con mayor concentración de falotoxinas. Estas diferencias pueden llegar a ser muy significativas, habiéndose demostrado concentraciones hasta 2 veces superiores en el sombrero que en el pie y, a su vez, en este dos veces superiores a los de la volva. De esta forma, también se ha demostrado como un factor muy importante, la genética de cada seta y la influencia del entorno ambiental que las

rodea. Algunos de los factores determinantes de la concentración de amatoxinas incluyen el pH del suelo (mayor concentración de amatoxinas en pH ácidos), la climatología, o las asociaciones ectomicorrizales con la vegetación que las rodea (17).

FIGURA 3: Principales setas con contenido en amatoxinas descritas en la península ibérica . 1: *A. Phalloides* (Miguel Serrulla); 2: *A. Verna*; 3 *A. Virosa*; 4 *L. Helveola*; 5 *L. Subincarnata*; 6 *L. Brunneoincarnata*; 7 *G. Marginata*; 8 *Conocybe Filaris*.

Entre los dos géneros restantes, con diferencia mucho menos frecuentes, *lepiota* cobra mayor relevancia en la península (concretamente en Galicia) (*brunneoincarnata, helveola* y *subincarnata* como las tres especies predominantes), y es especialmente importante puesto que su hábitat es cercano a entornos poblados (praderas, bordes de caminos…). Dentro del género *Galerina*, a diferencia de *Lepiota*, solo se encuentra una especie relevante con amatoxinas, la *Galerina marginata*, la más infrecuente de todas en nuestro entorno. Y, por último, un género con reconocido contenido en amatoxina el *Conocybe*, dentro del cual tan solo se incluye una especie: *Conocybe Filaris,* también importante a tener en cuenta debido a su presencia descrita en el norte de España.

En la Figura 3 se observan las principales setas descritas en el noroeste de la península ibérica (2) (13) con contenido probado en amatoxinas. Desde el punto de vista clínico, cabe especial mención a sus principales confusiones con otros tipos de setas que sí son comestibles. La *A. Phalloides* presenta como principales confusores a la *Russula virescens*, *Russula cyanoxantha*, *Russula vesca*, *Tricholoma ecuestre* y *Tricholoma portentosum*. Por otra parte, la *A. Verna* se podría confundir con Leucoagaricus *leucothites*, *Agaricus Campestris* y *Calocybe Gambosa* (estas dos últimas con volva), la *A. Virosa* también con el género *agaricus* y algunas lepiotas blancas (aunque su olor fétido dificulta su confusión), las tres lepiotas son fácilmente confundibles entre ellas aunque sigue siendo el género *agaricus* su principal confusor dadas las tonalidades rojizas, escamas, y su pequeño tamaño. La *G. Marginata* presenta un principal confusor común en España que es la *Kuehneromyces Mutabilis* (además de la *G. autumnalis*, pero poco común e igualmente tóxica) además de ciertas setas del género *Psylocibe* y, por último, el *C. Filaris* con el *C. Aporos* (mucho más común y comestible) e igualmente con setas alucinógenas del género *Psylocibe* presentes en Galicia, debido a sus hábitats corpofílicos y de descomposición vegetal(16) (18).

En cuanto a los registros hoy en día sobre mapas de distribución de hongos macromicetos en la comunidad gallega, encontramos que generalmente son escasos y dependientes de la observación particular. Sin embargo, en base a su hábitat, podemos hacer ciertas inferencias sobre su densidad de aparición. Como se observa en la Tabla 4, este es muy variable en función de la especie a estudio y, además, presenta una amplia polivalencia; pero dado que la especie más representativa a estudio es la *A. Phalloides*, este debería incluir principalmente bosques con abundancia en arboles planifolios o bosque de frondosa, muy bien diferenciado y abundante en Galicia.

Concretamente esta seta es abundante en bosques donde frecuenten tipos de árboles con los que pueda establecer asociaciones ectomicorrizales como los robles, encinas, castaños, hayas, alcornoques, abedules o avellanos. Asimismo, se considera que, dentro de su gran polivalencia, es menos frecuente en su asociación con eucaliptos o coníferas. Esta seta es un hongo acidófilo, con preferencia por suelos de tipo ácido y, como muchos otros, con una gran necesidad de humedad para su correcto desarrollo.

Los tipos de bosque de frondosa mencionados anteriormente son seleccionados en el visor cartográfico utilizando como base de datos el mapa forestal de España (MFE50). Mediante la superposición de capas podemos diferenciar que estos están principalmente localizados en la comunidad de Ourense y sur de Lugo. Aunque existe cierta densidad en el este de la provincia de Pontevedra, su abundante presencia de masas arbóreas invasoras como el eucalipto, la cual se extiende muy densamente por el norte y oeste de la comunidad, hace la región litoral gallega un lugar con un hábitat menos favorable para el desarrollo de estos de hongos. Asimismo la distribución de coníferas presenta un patrón similar (20). Es por esto que la región más proclive para la aparición de estas especies debería ser localizada en torno al sur de Lugo y noreste de Ourense. Sin embargo, es de especial mención que setas como la *A. Phalloides* son altamente ubicuas en cuanto a su capacidad de crecer en hábitats menos favorables y con condiciones climáticas adversas.

Amanita Phalloides	Entre finales de verano y otoño bajo planifolios (castaños, alcornoques, robles...) y muy ocasionalmente bajo coníferas con afinidad por suelos ácidos (19).
Amanita Verna	Crece fundamentalmente en primavera de forma bastante ubicua (robles, encinares, coníferas…) sobre suelos silíceos (16).
Amanita Virosa	Bosques caducifolios-planifolios principalmente en otoño y de forma aislada (16).
Lepiota Brunneoincarnata	Desde verano a otoño en praderas, parques, bordes de caminos, jardines con vegetación alta y árboles planifolios (16).
Galerina Marginata	Crece en otoño sobre troncos y ramas fundamentalmente de coníferas en degradación (19).

TABLA 4: Distribución por hábitats de las principales setas con amatoxinas presentes en el noroeste peninsular.

4.2. EPIDEMIOLOGIA DE LAS INTOXICACIONES POR SETAS EN EL MUNDO, ESPAÑA Y GALICIA.

El American Asociation of Poisson Control Center (AAPCC), presenta anualmente un informe sobre su vigilancia epidemiológica nacional. En este caso, el más actualizado, de 2022, de un total 1,025,478 intoxicaciones registradas por sustancias no farmacológicas, un 0.737% (n=7.514) fueron clasificados como micetismos y un 1.26% (n=95) como intoxicaciones confirmadas por amatoxinas. Entre aquellas que se clasificaron como

micetismos, igual que se puede observar en otros registros a nivel internacional, nunca pudo ser identificada una seta causante en el 68.29% de las situaciones, lo que genera un importante sesgo sobre el propósito a estudio(8).

Sin embargo, entre los 95 casos en los que se realizó un análisis confirmatorio para amatoxinas, el perfil epidemiológico demostró que los grupos de edad más afectados fueron los mayores de 20 años (58.13%), seguido de los menores de 5 años (22.09%). El 79.3% de estas se produjeron en un contexto accidental y un 23.25% en un contexto intencionado. El resultado de las intoxicaciones demostró que la mayoría tuvieron efectos leves o moderados (87.5%) y un 10.71% efectos graves, habiendo fallecido tan solo 1 de ellos durante este año(8). En cuanto a los tipos de setas responsables, es el registro de la North American Micology Association (NAMA) uno de los más grandes hasta la fecha, donde se expone un análisis desde diciembre de 1975 hasta diciembre de 2005 de los micetismos que tienen lugar en este país. En este registro se identificó que, de un total de 1641 micetismos con toxina confirmada, 147 (8.95%) se debieron a amatoxinas, con un promedio de 6 intoxicaciones/año, dentro de las cuales se definió una tasa de letalidad del 11%. Asimismo, la principal seta identificada fue la *Amanita Phalloides* (37.16%), seguida de la *Amanita virosa* (17.56%) y la *Amanita bisporigera* (12.16%). Estos datos son concordantes con otros estudios presentados hasta la fecha, exceptuando la distribución de las setas responsables, aunque esto podría deberse a la bien conocida diferente distribución de las setas entre América y Europa(21).

A nivel europeo, cada país establece un sistema de registro epidemiológico de intoxicaciones bajo los criterios establecidos por la OMS (Organización Mundial de la Salud), que a su vez determina la directiva general organizativa y de gestión necesaria en cada centro. En el caso de España, el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses (INTCF) y, en particular, el Servicio de Información Toxicológica (SIT) es la entidad responsable de dicho registro epidemiológico. Este organismo no incluye en sus informes públicos información referente a ningún tipo de micetismo, sin embargo, sí que se publicó un informe de un análisis puntual de intoxicaciones por setas en el año 1992, en el cual se objetivó que el 0.231% de las intoxicaciones habían sido micetismos confirmados, siendo los varones adultos el principal grupo afectado. En este informe se evidencia también que, de los 178 micetismos registrados, un 3.37% se habían producido en Galicia (séptima posición), siendo la comunidad más afectada a nivel peninsular la comunidad catalana con un 14.60% de estas. En este documento también se aprecia un aumento de la densidad de intoxicaciones centrada en el norte peninsular (67.25%), sin embargo, la distribución geográfica no presenta una total correlación con el hábitat de la seta objetivo(22). En otro registro realizado, relevante a nivel español, entre el año 2009 – 2015, que analizó 427 micetismos con seta y toxina confirmadas, se vio que, de las 115 intoxicaciones por amatoxinas, 14 se habían producido en la comunidad gallega (12.1%), teniendo estas una tasa de letalidad del 14%. Del total de intoxicaciones en España, por otra parte, se observó una tasa de letalidad del 13.04%. En cuanto al trasplante hepático, tan solo un 12.5% de los pacientes fallecieron tras ser trasplantados y ninguno de estos ocurrió en Galicia, aunque este dato podría estar influenciado por una muestra de tan solo 8 trasplantados en este periodo (1). Este mismo autor realiza previamente otro análisis en el periodo comprendido entre 1982 y 1997, en el cual se estudian 166 intoxicaciones confirmadas por amatoxinas, de las cuales 13 (7.2%) presentaron un resultado fatal(9). No obstante, a nivel español, no encontramos ningún otro registro estandarizado de acceso público para este tipo de intoxicaciones, por lo que es difícil extraer conclusiones sólidas, en comparación con los registros americanos presentados con anterioridad.

En la Tabla 5, podemos observar una comparativa de estos estudios, donde se resaltan los aspectos más relevantes. Entre un 1.26%8.95% del total de micetismos son producidos por amatoxinas y estos presentan una letalidad de entre el 1.05%13.04%, según las series analizadas.

En Galicia, por otra parte, el sistema de

codificación actual tan solo permite una aproximación grosera de los micetismos a través de la codificación para atención especializada, ya que la codificación propuesta para primaria tan solo contempla un código "CIAP: A86.02: Intoxicación por plantas / animales venenosos". En el caso de atención especializada sí que podría tener utilidad un análisis detallado de estas intoxicaciones en futuras investigaciones, ya que el código CIE 9: "988.1: Efecto tóxico de setas y champiñones" podría tener una mejor aplicabilidad.

	Periodo a estudio	Intoxicaciones analizadas.	Micetismos confirmados	Hepatotoxicidad por amatoxinas	Fallecidos por amatoxinas
AAPCC	2022	1.025.478	7514	95 (1.26%)	1 (1.05%)
Dr. Piqueras	2009 2015	427 (micetismos)	427	115	15 (13.04%)
NAMA	1975 2005	1641 (micetismos)	1641	147 (8.95%)	16 (11%)
Dr. Piqueras	1982 1997	166 (micetismos por amatoxinas)	166	166	13 (7.2%)

TABLA 5: Comparativa entre los principales registros actuales sobre intoxicaciones por setas con amatoxinas.

4.3. TOXICOCINÉTICA Y TOXICODINÁMICA DE LAS AMATOXINAS.

Las amatoxinas son octapéptidos bicíclicos de aproximadamente 900g/mol, neutros o ácidos, cristalinos solubles en disolventes como el agua o el metanol, que están presentes en determinados géneros y especies de setas toxicas. Hasta la fecha se han identificado un total de 9 amatoxinas diferentes (α-amanitina, β-amanitina, γ -amanitina, ε-amanitina, amanina, amaninamida, amanulina, ácido amanulínico, y proamanulina) aunque la toxicocinética y toxicodinámica apenas se conoce de tan solo la α-amanitina y la β-amanitina (6). Estos compuestos hidrosolubles comparten la característica de ser resistentes al calor, al frío, a la desecación (lo que explica que no sean destruidas durante el procesamiento alimentario), así como a los ácidos gástricos y la mayoría de mecanismos detoxificadores humanos. El resto de toxinas asociadas a las amatoxinas en la mayoría de ejemplares (falotoxinas, falolisinas o virotoxinas) también tienen un potencial dañino relevante y, por ello, necesitan especial mención. Su distribución micológica es menos conocida, incluso se ha descrito la presencia de falotoxinas y virotoxinas en setas que carecen de amatoxinas y producen un daño similar. Estas son, de hecho, responsables de una toxicidad más precoz, aunque presentan un perfil de hepatotoxicidad de 10 a 20 veces menos grave que las amatoxinas (23). Algunas de ellas, como las virotoxinas, solamente han sido descritas en ejemplares de *A. virosa*, estando ausentes en la *A. Phalloides (2)*. Las dosis tóxicas de las amatoxinas en humanos tan solo han sido estudiadas para la a-amatoxina, estableciéndose una LD_{50} oral de 0.1 mg/Kg. Cada gramo de seta en seco contiene entre 1.5-2.5 mg de amatoxina, por lo que tan solo un ejemplar de tamaño medio (20-30 g) podría ser letal para un humano. Cabe destacar que no solo su ingesta es susceptible de producir toxicidad, puesto que incluso ha sido demostrado analíticamente la presencia de amatoxinas en las esporas de la seta. Esto podría explicar la toxicidad oral ligada a la manipulación de la seta con las manos, aunque no ha sido demostrada la posibilidad de que la vía inhalatoria pueda tener alguna implicación (1).

En la Figura 4 podemos observar un resumen esquemático de cómo las amatoxinas ingresan en la circulación sistémica, se excretan, y actúan sobre las principales dianas involucradas en su hepatotoxicidad. Debido a la ausencia de metabolización hepática y la casi nula tasa de

unión a la albumina plasmática, las α y β amatoxinas, una vez ingeridas, se absorben rápidamente en el tubo digestivo y son detectables en orina entre 90-120 min post-ingesta. Por esta vía es excretado el 80-90% de la toxina, con una fracción de excreción máxima en las primeras 72 horas, siendo aproximadamente su vida media plasmática de entre 10-15h. No obstante, algunas series afirman que trazas de amatoxinas han podido ser detectadas incluso 4-5 días después de la ingesta del hongo, lo que podría justificar ciertas técnicas de depuración y analíticas hasta ese momento (6). El resto de la excreción es completada vía biliar y fecal debido a la circulación enterohepática.

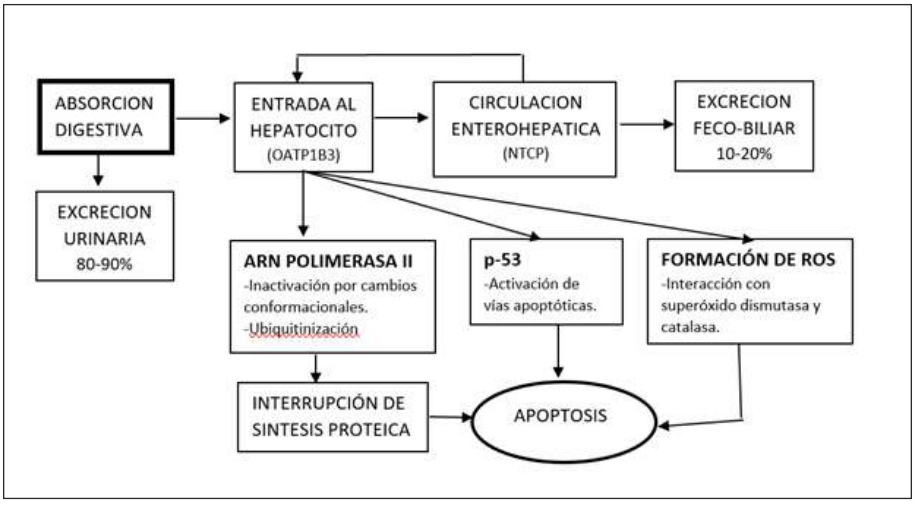


FIGURA 4: Síntesis del modelo clásico sobre toxicocinética y toxicodinamia de las amatoxinas. Esquematización: Miguel Serrulla.

Los principales transportadores de las amatoxinas en el humano son el OATP1B3 en la membrana sinusoidal del hepatocito y el NTCP tanto en la membrana basal del hepatocito como en las células acinares pancreáticas. El primero es el realmente responsable de la entrada del tóxico en el hígado, así como el segundo lo es de la reabsorción de las sales biliares en sangre portal. La entrada masiva del tóxico al hígado y su gran potencial lesivo es altamente dependiente de la expresión y función de estos transportadores; es por eso que han sido consideradas las principales dianas terapéuticas de la mayoría de los antídotos disponibles como la sibilina, la PEN G, la ciclosporina A, y la Rifampicina, las cuales inhiben el OATP1B3, o la metilprednisolona y el ezetimibe, capaces de inhibir el NTCP (23) (24).

La rápida absorción de las amatoxinas por el hepatocito y la recirculación enterohepática son las claves de su especial toxicidad, puesto que esto explica una exposición prolongada a un tóxico que fisiológicamente el ser humano depura relativamente rápido. Aunque el gran acúmulo de tóxico en los riñones también puede causar necrosis tubular aguda en este órgano, debido a la presencia manifiesta del transportador de la toxina (25), es en el hígado donde se desarrollan las tres vías clásicamente conocidas, que llevan a la lisis hepatocitaria: la inhibición de la ARN polimerasa II (principal mecanismo de acción descrito), la activación de vías apoptóticas vía TNF y p53, y la necrosis inflamatoria hepatocitaria por el incremento del estrés oxidativo (formación masiva de radicales libres).

Biológicamente, sin embargo, el principal potencial tóxico de las amatoxinas se debe a la interrupción de la síntesis proteica. Ya en 1967 surgen las primeras hipótesis sobre la capacidad de la α-amatoxina para disminuir el ARN nuclear, y durante los años 70 se descubre

la interacción de esta con la RNA polimerasa II. Pero no es hasta la primera década del siglo XXI cuando se consigue precisar las interacciones toxina-enzima que llevan a la interrupción en la transcripción-elongación proteica (25). Según la evidencia más reciente, hoy en día sabemos que el punto de unión de la amatoxina a las ARN polimerasa II se encuentra entre las subunidades RNApb1 y RNApb2, desde donde se propone que es capaz de interaccionar con el trigger loop y el bridge hélix, dos estructuras que componen la secuencia carboxi-terminal de la proteína, causando en ellos cambios conformacionales que llevan a la interrupción en el proceso de elongación, y alterando la síntesis de ARNm (25). También se ha propuesto la hipótesis de que esta toxina es capaz incluso de degradar la subunidad RNApb1 en fibroblastos de ratón de forma irreversible, principalmente mediante ubiquitinización y destrucción proteasómica (6) (23). Las otras dos enzimas homólogas, la RNA polimerasa I y III, presentan sin embargo interacciones diferentes con las amatoxinas: En el primer caso, la RNA polimerasa I se describe como inmune a la acción de las amatoxinas, sin embargo la RNA polimerasa III podría ser afectada si la concentración de toxinas es suficientemente alta (80ng/ml en comparación con los 10ng/ml necesarios para inhibir la ARN polimerasa II), aunque esta situación solo se ha estudiado en entornos in vitro (2).

Entre el resto de mecanismos responsables de la toxicidad hepática, es de especial mención la activación de p53, que interacciona con Bcl-2 y Bcl-XL activando las vías apoptóticas mediante la liberación del citocromo C, la IL-6 y la caspasa-3. Se ha demostrado que las células *knock out* para esta p53 sufren menor toxicidad tras la exposición a la amatoxina. Además, la a-amanitina tiene una interacción todavía parcialmente desconocida con la superóxido dismutasa, y la catalasa, activando e inactivándolas respectivamente, para así contribuir a la formación masiva de ROS (especies reactivas de oxígeno), mROS (especies reactivas de oxígeno mitocondriales) y RSS (especies reactivas de azufre), responsables en última instancia de la respuesta necrótica e inflamatoria, caracterterísticamente observada en estas intoxicaciones (6) (23) (26).

Cabe destacar que estos mecanismos toxicodinámicos clásicamente se habían atribuido a la apoptosis y necrosis hepatocitaria, aunque hoy en día se están estudiando otros mecanismos de muerte celular como la piroptosis, la necroptosis, la ferroptosis o la autofagia. De entre ellos, la muerte celular programada de tipo autofagia se ha identificado como un mecanismo atribuido a la toxicidad por amatoxinas, por la capacidad de estas de aumentar la expresión del complejo autofagosómico LC3 II/I. Esto podría tener implicaciones clínicas, puesto que existen fármacos como la 3 metilamina, capaces de disminuir la expresión de estas proteínas (25).

Existen también nuevas líneas de investigación, en búsqueda de dianas terapéuticas que tratan de explicar la toxicidad precoz de la amatoxina en los hepatocitos. Se han encontrado efectos directos sobre la permeabilidad de la membrana mitocondrial, reducción de niveles de ATP, y liberación de radicales libres mitocondriales, que resaltan también la importancia al proceso necrótico sobre el apoptótico o autofágico, aunque se necesitan más estudios que demuestren estas últimas afirmaciones. Estas nuevas vías de daño podrían ser utilizadas como dianas terapéuticas en un futuro (27).

4.4. MICETISMOS POR SETAS CON AMATOXINAS: ASPECTOS CLÍNICOS Y MÉDICO LEGALES.

4.4.1. Síndrome clínico.

Debido al peculiar mecanismo de acción de las amatoxinas, los micetismos que desencadenan presentan una clínica retardada tras su ingesta oral (>6 horas de latencia clínica). Aunque el inicio precoz de los síntomas no excluye la intoxicación, lo general es que esta complete cuatro fases típicas (28) (29):

- Una primera fase de latencia asintomática (0-24h). Fase crítica, ya que se ha identificado una correlación directa entre la duración de la latencia asintomática y el buen pronóstico de

la intoxicación (18).

- Una fase gastrointestinal (6-24h) donde predominan náuseas, vómitos, diarrea de tipo coleriforme (capaz de generar una deshidratación grave), dolor abdominal, hipotensión, hipoglucemia, alteraciones acido-básicas y electrolíticas, conformando una clínica generalmente inespecífica.

- Una fase de aparente mejoría (24-72h), si se realiza el tratamiento sintomático, donde la clínica gastrointestinal desaparece y comienzan a elevarse los marcadores de daño hepático, a la vez que comienza a afectarse el riñón.

- Y una fase final de fallo hepático agudo (4-9 días), que cursa con hiperbilirrubinemia/hipertransaminemia, coagulopatía, hipoglucemia, acidosis, encefalopatía hepática, síndrome hepatorrenal y, por último, fallo multiorgánico con coagulación intravascular diseminada (CID), trombosis mesentérica, coma y muerte.

A pesar de esto, la latencia de estas intoxicaciones no es exclusiva del síndrome faloidiano. En el diagnóstico diferencial deben incluirse principalmente el síndrome giromítrico (*Gyromitra esculenta)* y el síndrome orellánico (*Cortinarius orellanus /orellanoides/ speciosissimus/ henricii, Mycena pura*, y *Omphalatus orarius*). El primero suele cursar con sintomatología gastrointestinal como náuseas, vómitos y diarrea con dolor cólico, asociados a alteraciones neurológicas y hepatotoxicidad aguda transcurridos unos días tras la ingesta. Y, por otra parte, el síndrome orellánico se manifiesta inicialmente con un cuadro gastrointestinal inespecífico con cefalea y mareos, que dan paso a una latencia de entre 3-20 días hasta presentar un fallo renal fulminante (18)(24).

4.4.2. Métodos diagnósticos.

El test de Wieland o Meixner fueron los primeros test diagnósticos disponibles, estos se basan en una reacción de color entre la amatoxina (presente en el jugo de la seta) y la lignina del papel de periódico no satinado con ácido clorhídrico, por otra parte, el test de Gerault utiliza una solución alcohólica de aldehído cinámico y ácido clorhídrico. Estas pruebas necesitaban un test de control y sus tasas tanto de falsos negativos como positivos eran muy elevadas, provocando reacciones cruzadas con otros compuestos presentes en setas sin amatoxinas como la psilocibina o la serotonina (6), por ello hoy en día están prácticamente en desuso (18).

Actualmente, el diagnostico premortem adquiere un gran valor. Se ha determinado que la combinación de una herramienta de alta sensibilidad y valor predictivo negativo como es la evaluación clínica y anamnesis por un especialista, junto con otra herramienta con alto valor predictivo positivo como es el análisis urinario de amatoxinas, son la aproximación más útil para el diagnóstico. Resulta crucial la recogida de orina lo más precozmente posible, dada la rápida excreción renal de la amatoxina tras la intoxicación, para minimizar sus falsos negativos (30). Sin embargo desde el punto de vista médico legal, un aspecto de especial relevancia es la recogida de datos, entre los más importantes a tener en cuenta destacamos:

- Obtención de muestras de los hongos consumidos para identificación por un experto.

- Características del lugar de recolección (tipo de bosque, setas adyacentes, climatología, ubicación geográfica…

- Características macroscópicas del hongo: forma y colores del sombrero, pie, anillo y volva, tamaño.

- Procesos de cocción, desecado o congelación aplicados.

- Casos similares en el entorno u otras personas que hayan consumido ejemplares.

Además, también se recomienda que el personal sanitario ponga en conocimiento del Servicio de Información Toxicológica (SIT) la

intoxicación o caso sospechoso para poder asesorar cada caso en función del escenario planteado (31)(28).

4.4.2.1. Análisis urinario:

En cuanto al análisis urinario, este habitualmente se realiza por radioinmunoensayo (RIA), Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), Cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) o por ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) (28). De todos ellos, probablemente el más ampliamente utilizado sea el ELISA, debido a su menor dificultad técnica, su disponibilidad, y su especial utilidad en caso de ingestas mixtas (mucho más frecuentes). En cuanto a utilidad clínica, con un mayor tiempo necesario para el análisis, se encuentra la LC-MS, también ampliamente utilizada como test confirmatorio, y en último lugar el RIA, que prácticamente ha quedado relegado a un uso exclusivo de laboratorio (24). Sin embargo, globalmente el coste y tiempo necesarios para el uso de estas pruebas las hacen unas herramientas de difícil aplicación, de forma que tan solo es recomendado su uso como diagnóstico confirmatorio y predictor de lesión hepatocelular grave en los casos en que se obtenga una muestra en las primeras 72 horas (32).

Hoy en día, se están desarrollando tests confirmatorios como el inmunoensayo de flujo lateral (LFIA) que podrían ser mucho más sencillas, baratas y rápidas que los anteriores. Con esta técnica se analizaron muestras de orina humana con toxina añadida y muestras de orina de perros intoxicados, demostrando en ambos grupos de muestras una correlación positiva con métodos de LC-MS, ofreciendo un punto de corte ligeramente mayor (10 ng/ml para la LFIA en comparación con 1 ng/ml para la LC-MS) pero un tiempo para la obtención del resultado de apenas 10 minutos y una dificultad técnica reducida, donde no es necesaria la purificación de la muestra ni el envío de esta para su análisis. A nivel experimental, el LFIA ha demostrado una sensibilidad para orina humana del 92.3% y especificidad del 100% (33).

Sin embargo, y por lo general estos análisis confirmatorios de orina hoy en día disponibles, suelen presentar una alta tasa de falsos negativos a >36 h postingesta (contraindicada a partir de las 48 horas). Asimismo, si la recogida de la muestra de orina es tardía, la fiabilidad de los resultados puede verse seriamente comprometida. (30) (34).

4.4.2.2. Otros procedimientos analíticos.

Nuevas líneas de investigación resaltan la utilidad del diagnóstico genético por PCR directa de fluidos corporales como las heces, el contenido gástrico, o muestras del alimento cocinado. Se han desarrollado primers capaces de detectar ADN ribosomal de *A. Phalloides*, *A. Verna* y *A. Virosa* en cantidades de incluso 0.01 pg de material genético, menos incluso del contenido genético de una célula del hongo, en muestras digeridas y cocinadas (por la presencia de sus esporas), con un escaso procesado preanalítico y con tiempos de análisis de en torno a 2 horas. (35).

El ADN ribosomal, y en concreto las secuencias hipervariables ITS (Espaciador Transcrito Interno) han sido usadas para la clasificación filogenética de plantas y hongos con anterioridad. El desarrollo de macroarrays para hongos tóxicos y sus principales confusores podría aportar un diagnóstico fiable y rápido de estas intoxicaciones (36). Además, estos tests podrían ser especialmente útiles ante una toma de muestras postmortem y presentar incluso mejores resultados en muestras fecales de diarrea o contenido gástrico que en las muestras de orina analizadas convencionalmente, ya que aquí el periodo ventana podría ampliarse más allá de las 48 horas.

Como método alternativo, también podría resultar de especial interés el análisis cromatográfico del fluido biliar , el cual ha sido documentada su positividad para amatoxinas incluso 6 dias después de la ingesta. El procesado de muestras tisulares hepáticas, renales, biliares o intestinales no ha sido documentado hasta la fecha, pero podría ser un objetivo interesante en futuras investigaciones,

cuando el diagnóstico tuviese que ser realizado días después de la intoxicación (37).

A nivel histopatológico no se han identificado hallazgos diferenciales con otras hepatitis tóxicas como la inducida por el paracetamol. Es frecuente encontrar datos de necrosis masiva centrolobulillar, y degeneración vacuolar, así como a nivel macroscópico un aspecto amarillento, con focos de degeneración grasa, hemorragias difusas parenquimatosas, hemorragia subcapsular, y signos de CID y estasis sanguíneo tanto en el hígado como en otros órganos (6).

A nivel renal, es habitual también que no aparezcan datos específicos de las amatoxinas, la afectación preferentemente cortical con focos hemorrágicos difusos, necrosis tubular aguda o la presencia de cilindros hialinos pueden ser hallazgos comunes (6).

4.4.3. Tratamiento.

El pilar del tratamiento tiene como principios las medidas de soporte, aplicadas precoz y agresivamente, incluyendo una rehidratación vigorosa con cristaloides i.v., ingreso precoz en unidades de cuidados intensivos con medidas de soporte vital, una adecuada corrección electrolítica y de factores de coagulación, así como un control exhaustivo de la diuresis, creatinina sérica y tiempo de protrombina (TP) (38). Sin embargo, se han evaluado muchas medidas específicas para este tipo de intoxicaciones, que se agrupan en 4 fases: la prevención de la absorción, la eliminación de las toxinas, el uso de antídotos específicos y, por último, el trasplante hepático (12).

La fase de **prevención de la absorción** es aplicable en muy pocas situaciones. El lavado gástrico y la administración repetida de carbón activado son las dos estrategias que mejor eficacia han demostrado en la primera hora post-ingesta. Solo el carbón activo podría ser aplicado a partir de este tiempo, por su capacidad para minimizar la circulación enterohepática (6)(12).

La **eliminación de las toxinas absorbidas**, la técnica que ha demostrado los mejores resultados entre las primeras 72 horas y los 4-5 días postingesta, es la diuresis forzada, junto con una pauta de rehidratación vigorosa (23). El resto de las técnicas depuradoras presentan un menor grado de evidencia, entre ellas destacan: la plasmaféresis, la hemodiálisis-hemoperfusión, y dos técnicas en investigación: el MARS (Molecular Adsorbent Recirculating System), y el FPSA (Fractioned Plasma Separation and Absortion) (12) (23).

Probablemente tanto el MARS como el FPSA sean las dos principales alternativas en este bloque de tratamiento. Ambos buscan como objetivo disminuir toxinas ligadas a la albumina (bilirrubina, urea, amonio...) como toxinas libres hidrosolubles (tóxicos como la amatoxina). El MARS, por una parte, cuenta con poca evidencia aplicada en estas intoxicaciones, aunque en ciertos casos se apunta a que podría ser utilizada como terapia eficaz. Por otra parte, el otro sistema de diálisis de albúmina, combinado con diálisis de alto flujo o FPSA (Prometheus©), posee una menor capacidad depurativa de amatoxinas, aunque tampoco ha sido aplicado con asiduidad a estas intoxicaciones. Los resultados demostrados para esta aplicación hasta el momento, de ambos sistemas dializadores no son concluyentes, aunque posiblemente el sistema MARS pudiera tener una mayor capacidad para la eliminación de las amatoxinas, y el FPSA un mayor poder en cuanto a la depuración extrahepática (nitrógeno, amonio, creatinina o bilirrubina) (39) (40).

El **uso de antídotos** o fármacos hepatoprotectores es un pilar básico, aunque no siempre efectivo, en el manejo del síndrome ciclopeptídico. El objetivo de estos va encaminado a bloquear el receptor OATP1B3 y/o a disminuir los radicales libres para favorecer la reparación hepática.

La silibinina, la ceftacidima y la PEN G son los tres principales inhibidores demostrados in vitro del OATP1B3, teniendo solo la sibilina y la PEN G una amplia demostración *in vivo*; siendo, por otra parte, la NAC la más importante dentro de los agentes antioxidantes (23).

La silibinina o silibina es un flavonolignano proveniente de una planta llamada *Sylibum Marianum* (cardo mariano), que constituye el principal componente de un extracto conocido como silimarina. Este extracto ha sido reconocido en la literatura como el clásico antídoto de estas intoxicaciones y, de hecho, es probada su alta afinidad por los receptores OATP1B3 (mayor incluso que la PEN G), así como su capacidad para minimizar la formación de radicales libres, la expresión de marcadores apoptóticos, la peroxidación lipídica o, incluso, la estimulación de la síntesis proteica vía RNA polimerasa I. En una situación similar se encuentra la PEN G, un betalactámico también capaz de inhibir dichos transportadores, sin embargo, con menor capacidad *in vitro* para minimizar la expresión de radicales libres o marcadores apoptóticos(10).

1 CRITERIO MAYOR:
- *TP > 100 s (INR>6.5)*
≥ 3 CRITERIOS MENORES:
- *TP > 50 S (INR>3.5).* - *Bilirrubina > 17.5 mg/dl.* - *Edad <10 o >40 años.* - *>7 días entre ictericia y encefalopatía* - *Toxicidad a otras drogas.*

TABLA 6: Criterios King's College para indicación de trasplante hepático (versión no-paracetamol) (26).

Dentro de los numerosos antídotos que se han estudiado, la PEN G, SIL y NAC son los que mayor tasa de supervivencia proporcionan, seguidos de estos se encuentran otros como la ceftacidima, cimetidina, por último, el ácido lipoico, vitamina E, insulina, glucagón y hormona de crecimiento con las mayores tasas de mortalidad (26). Es únicamente la polimixina B el único antídoto que ha demostrado un mecanismo de acción mucho más eficaz *in vitro* por su capacidad de bloquear los puntos de unión de la amatoxina a la RNA polimerasa II, sin embargo, estudios *in vivo* posteriores han demostrado que esta inhibición es insuficiente para proteger al hepatocito de la amatoxina, lo que resalta la importancia de otros posibles mecanismos de daño(7)(27).

El tratamiento combinado de antibióticos como la PEN G, y la SIL, con o sin la adición de la NAC, ha sido el soporte farmacológico más ampliamente utilizado (26). No obstante, hoy no se dispone de evidencia suficiente para afirmar que existe una mejor respuesta con la coadministración de PEN G + SIL que con la monoterapia de SIL, y numerosas series apuntan a que la combinación de SIL con NAC o PEN G – NAC, sí que podría ser una terapia de alta efectividad, sobre todo en las fases precoces de intoxicación.(7) (10) (12) (28).

En cuanto al **trasplante hepático**, el abordaje que mejores resultados ha demostrado es su realización de forma precoz ante los casos en los que exista un fallo hepático fulminante demostrado. Para su indicación, destacan los criterios de Clichy, King's College, Ganzert y Escudie. Los resultados sobre mortalidad han demostrado que los que mejor eficiencia presentan son los criterios de King's College (en el subtipo de tóxicos no-paracetamol) (28), que se pueden observar en la Tabla 6. Si bien estos criterios son una de las herramientas más útiles y las únicas evaluadas para la decisión de trasplante, el pico de mayor mortalidad por estas intoxicaciones suele situarse entre el 4-6 día, por ello en ocasiones son de utilidad de forma tardía ya que el punto óptimo para su valoración se encuentra a las 72 h de la ingesta. Por esto último se ha apuntado la importancia de una valoración continua y muy precisa, junto con un traslado inmediato a la unidad de cuidados intensivos a aquellos pacientes que presenten criterios de gravedad, independientemente de ser o no incluidos en código cero para trasplante hepático.

Probablemente debido al escaso número de casos, no existe un consenso claro sobre los factores pronósticos para pacientes trasplantados por intoxicaciones por amatoxinas. Sin embargo, las intoxicaciones por paracetamol y amatoxinas presentan índices de supervivencia similares, y claramente peores

que los trasplantes por otras causas. Algunos de los factores pronósticos que podrían tener utilidad para este fin en ambas causas incluyen: el nivel de bilirrubina previo al trasplante (p=0.023) (especialmente si >17.5 mg/dl), y el número de concentrados de hematíes (p=0.013) y plasma fresco (p=0.004) necesarios durante la intervención. El primero ha sido vinculado fuertemente a la dosis del tóxico y tiempos de espera, así como el segundo al acto operatorio. Ambos presentan una significativa correlación negativa con los índices de supervivencia a 5 años(41).

5. CONCLUSIONES.

Como conclusiones de la revisión bibliográfica realizada sobre las intoxicaciones por setas con amatoxinas en Galicia, su situación actual y manejo clínico-toxicológico, se pueden extraer las siguientes:

- Las amatoxinas son responsables de entre un 1.26%8.95% del total de micetismos, y presentan una letalidad de entre un 1.05%13.04%.

- El hábitat más proclive para el crecimiento de la principal seta estudiada (*A. Phalloides*) se encuentra al sur de Lugo y este de Ourense. Aunque este es un factor importante, es de especial relevancia tener en cuenta en factor cultural y el factor de densidad poblacional, que también juegan un papel importante en otros registros epidemiológicos de intoxicaciones en otros lugares de España. De hecho, es posible que el factor cultural, seguido del factor de densidad demográfica, tengan mayor impacto en las intoxicaciones que el factor de hábitat.

- De las características toxicocinéticas de las amatoxinas destaca que, aunque se excretan rápidamente por el riñón, permanece una importante cantidad en la circulación enterohepática, siendo esta la principal responsable de noxa hepática.

- La toxicodinámica clásica las sitúa como inhibidores irreversibles de la ARN polimerasa II, y potentes inhibidores de los antioxidantes fisiológicos, aunque hoy se sabe que no es la única y probablemente tampoco la principal vía de daño.

- Se plantea la posibilidad de que puedan también activar cascadas apoptóticas vía p53, interaccionar con complejos autofagosómicos, contribuir a la peroxidación lipídica, o provocar depleción precoz de ATP por interacción con la membrana mitocondrial. Esto abre nuevas líneas de investigación sobre mecanismos de muerte celular diferentes a la necrosis inflamatoria descritos con anterioridad.

- El manejo clínico más efectivo se basa en el reconocimiento precoz de la intoxicación (con anamnesis y análisis de la amatoxinuria), tratamiento de soporte, uso de antídotos adecuados, y trasplante hepático precoz en los casos en los que esté indicado.

- En el diagnóstico analítico postmortem posiblemente sean más relevantes los test genéticos (vía PCR directa) sobre el ADN ribosomal remanente en contenido intestinal, así como el análisis de las amatoxinas en fluidos biliares mediante técnicas cromatográficas convencionales.

- Los antídotos que mayor evidencia demuestran se basan en la combinación de un agente bloqueador del OATP1B3 (SIL con mayor evidencia que PEN G) junto con un antioxidante como el NAC.

- La abundante presencia de setas como la *A. Phalloides* en el noroeste peninsular, su fácil confusión, la resistencia y letalidad de sus toxinas, y las características tardías del síndrome ciclopeptídico que producen, la hacen un hongo especialmente peligroso en Galicia.

- Debido a una mayor implantación de una cultura micófaga en Galicia, a la fácil confusión de setas como la *A. Phalloides* con otras comestibles, y a la inexperiencia de muchos recolectores, los micetismos podrían ser un creciente problema sanitario. Estos micetismos pueden ser de difícil

reconocimiento y no se dispone todavía de pruebas confirmatorias precoces suficientemente validadas. El diagnóstico precoz parece ser el segundo factor pronóstico más importante, junto con la cantidad de seta ingerida.

LIMITACIONES DE LA EVIDENCIA.

La mayor dificultad en este estudio se ha encontrado en los nuevos mecanismos actualmente propuestos de toxicidad por amatoxinas (peroxidación lipídica, producción de radicales libres, mecanismos de muerte celular alternativos…), así como en puntos relevantes referentes a la epidemiología local de estas intoxicaciones. Es en estas situaciones donde mayor variabilidad de hipótesis aparecen, y donde actualmente más se centra el foco de investigación, por lo que resulta necesario un mayor esfuerzo investigador para establecer consenso, plantear protocolos y realizar registros uniformes y específicos respecto a este tipo de intoxicaciones.

Actualmente no existe un sistema útil de codificación en el sistema sanitario gallego que permita un registro eficaz de estas intoxicaciones, y tan solo se conocen datos epidemiológicos nacionales y extranjeros al respecto. Sería por tanto necesario un análisis en mayor profundidad de la historia clínica de cada caso, así como de su evolución y manejo aplicado para poder extraer una conclusión sólida en la comunidad gallega.

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres María Herminia y Fernando. Y a los profesionales: Dra. Ana María Bermejo Barrera y Dra. Inés Sánchez Sellero , Dr. Josep Piqueras Carrasco, Dra. María Luisa Castro Cerceda, Dra. María del Carmen López Rodríguez

CONFLICTO DE INTERESES: El autor declara que no existen conflictos de intereses.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. PIQUERAS J. Nuevas aportaciones al conocimiento de la etiologia, fisiopatologia, clinica y terapéutica de las intoxicaciones por hongos macromicetos hepatotoxicos. 5th ed. Tesis doctoral: Universitat de Barcelona; 1988.
2. CASTRO MARCOTE JM, POSE CARRACEDO M, TRABA VELAY JM. 500 setas del litoral atlantico y noroeste peninsular. 1st ed. Pontevedra: Edicións do Cumio; 2011.
3. WHITE J, WEINSTEIN SA, DE HARO L, BÉDRY R, SCHAPER A, RUMACK BH, et al. Mushroom poisoning: A proposed new clinical classification. Toxicon. 2019; 157: 53-65.
4. JO WS, HOSSAIN MA, PARK SC. Toxicological profiles of poisonous, edible and medicinal mushrooms. Mycobiology. 2014; 42(3): 215-220.
5. BERGER KJ, GUSS DA. Mycotoxins revisited: Part I. The Journal of Emergency Medicine. 2005; 28(1): 53-62.
6. GARCIA J, COSTA VM, CARVALHO A, BAPTISTA P, GUEDES DE PINHO P, BASTOS MDL, et al. Amanita phalloides poisoning: Mechanisms of toxicity and treatment. Food and Chemical Toxicology. 2015;(86): 41-55.
7. DIAZ JH. Amatoxin-Containing Mushroom Poisonings: Species, toxidromes, Treatments and Outcomes. Wilderness and Environmental Medicine. 2018; 29(1): 111-118.
8. GUMMIN DD, MOWRY JB, BEUHLER MC, SPYKER DA, RIVERS LI, FIELDMAN R, et al. 2022 Annual Report of the National Poison Data System© (NPDS) from American´s centers: 39th Annual Report. Clinical toxicology (Phila). 2022; 60(12): 1381-1643.
9. PIQUERAS CARRASCO J. Intoxicaciones por setas, una actualización. Revista española de medicina legal. 2014; 40(1): 19-29.
10. TAN JL, STAM J, VAN DEN BERG AP, VAN DEN RHEENEN PF, DEKKERS BG, TOUW DJ. Amanitin intoxication: effects of therapies on clinical outcomes - a review of 40 years of reported cases. Clinical Toxicology. 2022; 60(11): 1251-1265.
11. VENTURA S, RUIZ C, DURÁN E, MOSQUERA M, BANDRÉS F, CAMPOS F, et al. Amanitinas. Revista del laboratorio clínico. 2015; 8(3): 109-126.
12. YE Y, LIU Z. Management of Amanita phalloides poisoning: A literature review and update. Journal of Critical Care. 2018;(46): 17-22.
13. MORENO G, MANJÓN JL. Guia de hongos de la peninsula iberica. Barcelona: Ediciones Omega; 2010.
14. Grupo Micolóxico Galego. Mykes. [Online].; 2022 [cited 2022 Nov 23. Available from: www. mykes.es.

15. PAGE MJ, MCKENZIE JE, BOSSUYL PM, BOUTRON I, HOFFMAN TC, MULROW CD, et al. Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. Revista Española de Cardiología. 2021; 74(9): 790-799.

16. Asociación cultural "Baxauri" Kultur Elkartea. Micologia. Fichas Micológicas. [Online].; 2020 [cited 2022 Jul 4. Available from: www.fichasmicologicas.com.

17. GARCIA J, OLIVEIRA A, GUEDES DE PINHO P, FREITAS V, CARVALHO A, BAPTISTA P, et al. Determination of amatoxins and phallotoxins in Amanita Phalloides mushrooms from northeastern Portugal by HPLC-DAD-MS. Mycologia. 2015; 107(4): 679-687.

18. ARRILLAGA ANABIARTE P, LASKIBAR URKIOLA X. Setas tóxicas e intoxicaciones. 1st ed. España: Sociedad de ciencias Aranzadi; 2006.

19. CAMPOS CASABON C, ARREGUI ÁLAVA A, RUBIO CASAS L. Manual de buenas prácticas y Guía de Setas de Guadalajara. 4th ed. Guadalajara. Diputación de Guadalajara: Servicio de medio ambiente; 2014.

20. Ministerio para la transición ecológica y reto demográfico. Sistema de información del Banco de Datos para la Naturaleza (BDN). [Online].; 2011 [cited 2022 Aug 1. Available from: https://sig.mapama.gob.es/bdn/.

21. BREUG M, SHAW M, COCHRAN KW. Thirty-Plus Years of Mushroom Poisoning: Summary of the approximately 2000 reports in the NAMA case registry. McIlvainea - North American Micology Association. 2006; 16(2): 47-68.

22. Instituto Nacional de Toxicología y ciencias forenses (INTCF) - Servicio de informacion toxicológica (SIT). Ministerio de Justicia. [Online].; 1992 [cited 2022 Nov 25. Available from: https://www.mjusticia.gob.es/es/EIMinisterio/OrganismosMinisterio/Documents/1292428320105-Intoxicaciones_por_setas.PDF.

23. LE DARE B, FERRON PJ, GICQUEL T. Toxic effects of amanitins. Repurposing toxicities toward new terapeutics. Toxins (Basel). 2021; 13(6): 417.

24. WIEGAN TJ. UptoDate. Clinical manifestations and evaluation of mushroom poisoning. [Online].; 2022 [cited 2022 Sep 21. Available from: https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-evaluation-of-mushroom-poisoning.

25. XUE J, LOU X, NING D, SHAO R, CHEN G. Mechanism and treatment of α-amanitin poisoning. Archives of toxicology. 2023; 97: 121-131.

26. POUCHERET P, FONS F, DORÉ JC, MICHELOT D, RAPIOR S. Amatoxin poisonin treatment decision-making: Pharmaco-therapeutic clinical strategy assessment using multidimensional multivariate statistic analysis. Toxicon. 2010; 55(7): 1338-1345.

27. XIAO C, BING S, CHENGMIN Y, QUNMEI Y, PEIBIN M, HAIJIAO L, et al. Energy disorders caused by mitochondrial dysfunction contribute to α-amatoxin-induced liver function damage and liver failure. Toxicology Letters. 2021; 336: 68-79.

28. SANTI L, MAGGIOLI C, MASTROROBERTO M, TUFONI M, NAPOLI L, CARACENI P. Acute liver failure caused by Amanita phalloides poissoning. International Journal of Hepatology. 2012; 2012: 480-487.

29. PEREDY TR. UpToDate. Amatoxin-containing mushroom poisoning (eg, Amanita phalloides): Clinical manifestations, diagnosis, and treatment. [Online].; 2021 [cited 2022 Sep 22. Available from: https://www.uptodate.com/contents/amatoxin-containing-mushroom-poisoning-eg-amanita-phalloides-clinical-manifestations-diagnosis-and-treatment.

30. ALLEN B, DESAI B, LISENBEE N. AMATOXIN: a review. Emergency Medicine: Open Access. 2012; 2(4): 1-3.

31. ENJALBERT F, RAPIOR S, NOUGUIER SOULÉ J, GUILLON S, AMOUROUX N, CABOT C. Treatment of amatoxin poisoning: 20 years of retrospective analysis. Journal of Toxicology. Clinical Toxicology. 2002; 40(6): 715-757.

32. ESCODA O, REVERTER E, TO-FIGUERAS J, CASALS G, FERNÁNDEZ J, NOGUÉ S. Potential value of urinary amatoxin quantification in patients with hepatotoxic mushroom poisoning. Liver International. 2018; 39(6): 1128-1135.

33. BEVER CS, SWANSON KD, HAMELIN EI, FILIGENZI M, POPPENGA RH, KAAE J, et al. Rapid, Sensitive and Accurate Point-of-Care Detection of Lethal Amatoxins in Urine. Toxins (Basel). 2020; 12(2): 123.

34. GISPERT MA, ESCODA O, PIQUERAS J, NOGUÉ S, GALICIA M, SUPERVIA A. Redantidotos. Sociedad Catalana de Medicina de Urgencias y Emergencias (SOCMUETox). [Online].; 2019 [cited 2022 Dec 10. Available from: https://redantidotos.org/wp-content/uploads/2019/11/MICETISMOS-SoCMUETox.pdf.

35. GAUSTERER C, PENKER M, KRISAI-GREILHUBER I, STEIN C, STIMPFL T. Rapid genetic detection of ingested Amanita Phalloides. Forensic Science International: Genetics. 2014; 9: 66-71.

36. HARPER K, SMART C, DAVIS RM. Development of DNA-Based Macroarray for the Detection and Identification of Amanita Species. Journal of Forensic Sciences. 2011; 56(4): 1003-1009.

37. JIAN S, HONG-SHUN Z, HAI-JIAO L, YI-ZHE Z, QUIAN H, JUN-JIA L, et al. A case study of Lepiota brunneoincarnata poisoning with endoscopic nasobiliary drainage in Shandong, China. International Journal on Toxinology. 2019; 161: 12-16.

38. BERNUAU JR, FRANCOZ C, DURAND F. Amatoxin

poisoning: Inmediate transfer to intensive care or liver unit of patients at early risk of severe acute liver injury. Liver International. 2019; 39(6): 1016-1018.

39. BERGIS D, FRIEDRICH-RUST M, ZEUZEM S, BETZ C, SARRAZIN C, BOJUNGA J. Treatment of Amanita Phalloides Intoxication by Fractionated Plasma Separation and Adsorption (Prometheus®). Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases. 2012; 21(2): 171-176.

40. ARIZA CADENA F, CARMONA SERNA LF, QUINTERO IF, CAICEDO LA, VIDAL PERDOMO CA, GONZÁLEZ LF. Sistemas de soporte hepático extracorporeo. Revista Colombiana de Anestesiología. 2011; 39(4): 528-543.

41. KRASNODEBSKI M, GRAT M, HOLÓWKO W, MASIOR L, WRONKA KM, GRAT K, et al. Results of liver transplantation in patients with acute liver failure due to Amanita Phalloides and Paracetamol (acetaminophen) intoxication. Gastroenterology Review. 2016; 11(2): 90-95.

42. GISPERT AMETLLER A, AGUILAR SALMERÓN R. Manejo de las intoxicaciones por setas. Boletín de Antídotos de Cataluña. 2019; 2(3): 1-9.

43. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Prospecto: Informacion para el usuario. Legalon SIL 350mg liofilizado para solución para perfusión. Silibinina. [Online].; 2018 [cited 2022 Dec 22. Available from: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/p/59430/59430_p.pdf.

DIFERENTES METODOLOGÍAS DE UTILIDAD EN EL CAMPO DE LA GENÉTICA FORENSE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FLUIDO SEMINAL.

DIFFERENT METHODOLOGIES USEFUL IN THE FIELD OF FORENSIC GENETICS FOR THE IDENTIFICATION OF SEMINAL FLUID.

MUÑIZ McALEER C.[1], LAREU HUIDOBRO M.V.[2], DE LA PUENTE VILA M.C.[2], REMEDIOS TATO S.[1], RAMOS BLANCO A.[1]

RESUMEN.
En genética forense, la determinación de la presencia de fluidos biológicos resultar totalmente determinante en ciertas investigaciones, aportando información de utilidad para la reconstrucción de los hechos y el esclarecimiento de la verdad. Dentro de los fluidos biológicos más frecuentes destacan los siguientes: sangre, saliva, orina, sudor, semen y fluido vaginal. La genética forense es una ciencia que está experimentando grandes avances en los últimos años gracias al uso de nuevas metodologías que se aplican a la detección de fluido seminal. A pesar de que las técnicas inmunocromatográficas siguen siendo ampliamente utilizadas, las nuevas tendencias se inclinan hacia el estudio de metodologías basadas en la biología molecular, especialmente las de ARN mensajero. Aunque existen técnicas bastante seguras para la detección de fluido seminal, se debe seguir investigando ya que aún hay que superar desafíos tales como la correcta interpretación en el contexto forense de pruebas contaminadas o cruzadas.

PALABRAS CLAVE: GENÉTICA FORENSE, FLUIDO SEMINAL, METODOLOGÍAS DE DETECCIÓN, ANÁLISIS PRELIMINARES.

ABSTRACT.
In forensic genetics, the determination of the presence of biological fluids is crucial in certain investigations, providing valuable information for the reconstruction of events and the clarification of the truth. Among the most common biological fluids are blood, saliva, urine, sweat, semen, and vaginal fluid. Forensic genetics is a science that has been experiencing significant advancements in recent years, thanks to the use of new methodologies applied to the detection of seminal fluid. Although immunochromatographic techniques are still widely used, new trends lean towards the study of methodologies based on molecular biology, particularly those involving mRNA. While there are quite reliable techniques for the detection of seminal fluid, further research is needed as challenges such as the proper interpretation in the forensic context of contaminated or cross-contaminated evidence still need to be overcome.

KEY WORDS: FORENSIC GENETICS, SEMINAL FLUID, DETECTION METHODOLOGIES, PRELIMINARY ANALYSIS.

CONTACTO: Carla Muñiz McAleer, Email: carla_mm_@hotmail.com

1. INTRODUCCIÓN.

Se define como fluido biológico cualquier secreción producida por nuestro organismo. Los que habitualmente se pueden encontrar en las escenas de crimen son: sangre, saliva, orina, sudor, semen y fluido vaginal (4). Dichos fluidos contienen ADN que se puede analizar para la determinación de un perfil genético de STRs identificativo. Pero, además, la presencia o ausencia de un fluido biológico en concreto puede resultar totalmente determinante en ciertas investigaciones, aportando información de utilidad para la reconstrucción de los hechos y el esclarecimiento de la verdad. Sirven para establecer un enlace entre el dueño de la muestra, el tipo de células que se hallan y los acontecimientos que se produjeron (6)

La identificación del fluido biológico es una tarea que entraña complejidad ya que no siempre podemos localizar los fluidos a simple vista, no resulta fácil determinar de qué tipo son a simple vista. Además, en caso de que la muestra sea escasa, lo que suele ocurrir en el ámbito de la genética forense, el perito deberá decidir que análisis priorizar, ya que usualmente cada fluido requiere de un análisis independiente. Así, los principales métodos que utilizamos en la actualidad son test químicos, inmunológicos, de

1. Graduada en Medicina.
2. Instituto de Ciencias Forenses Luis Concheiro. Universidad de Santiago de Compostela.

la actividad catalítica de las proteínas, métodos espectroscópicos y microscopía (7). Otro problema es la preservación del ADN durante la realización de los análisis preliminares, de ahí que en la detección se prioricen usen técnicas seguras, rápidas y no destructivas con la muestra(8).

En este trabajo se revisarán en profundidad los métodos empleados para detectar el fluido seminal. Su importancia radica en que el semen es el fluido biológico más frecuentemente localizado en los crímenes de tipo sexual.

BIOQUÍMICA DEL SEMEN: El semen es un fluido producido por el aparato reproductivo masculino. Es de color blanco, viscoso y con un pH ligeramente alcalino. Está compuesto por el por el plasma seminal y los espermatozoides. Cuando está fresco, tiene un olor muy identificativo y cuando está seco deja unas manchas que pueden ser de color entre amarillo y gris(9).

Los espermatozoides se originan en las células germinales de los túbulos seminíferos. Se originan en un proceso denominado espermatogénesis de unos 60 días de duración, aproximadamente, y tienen un tamaño de unos 60 µm de longitud. Están divididos en tres partes diferenciadas:

- Cabeza, compuesta por el acrosoma (encargado de facilitar la fecundación gracias a las enzimas presentes en su interior) y el núcleo (que contiene la información genética).
- Cuello o pieza intermedia, zona de vital importancia ya que es donde están las mitocondrias, fuente de energía que permite el movimiento del espermatozoide.
- Flagelo o cola, estructura filiforme de 50 µm cuya principal función es la movilidad(10).

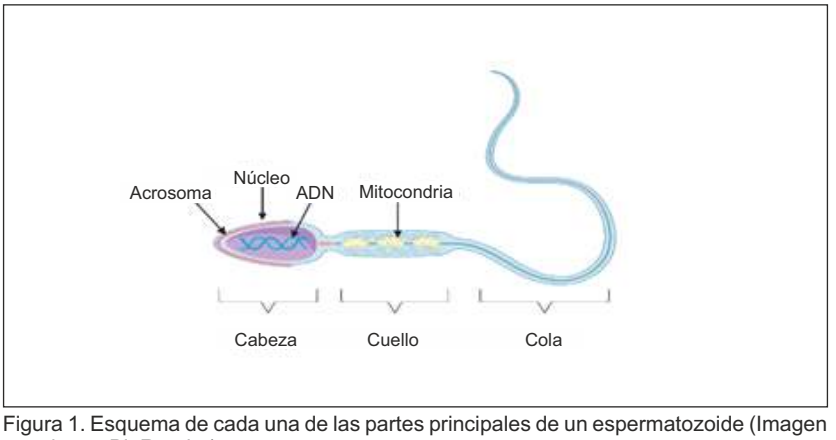


Figura 1. Esquema de cada una de las partes principales de un espermatozoide (Imagen creada con BioRender).

Por otra parte, el plasma seminal conforma la parte fluida del semen y sirve como vehículo para los espermatozoides, además de aportarles protección y nutrición. Se forma gracias a fluidos procedentes de los testículos, epidídimo, vesículas seminales, próstata y glándulas bulbouretrales. Está compuesto por una gran variedad de sustancias, destacando:

- Fructosa, principal fuente de energía para los espermatozoides.
- Ácido cítrico, que sirve para que se mantengan las condiciones de presión osmótica.
- Zinc, bactericida.

- Magnesio.
- Calicreína 3 o antígeno prostático específico (PSA).
- Fosfatasa ácida(11).

Teniendo en cuenta esta definición, distinguimos el semen del líquido preseminal. El segundo es secretado por las glándulas de Littre del aparato reproductor masculino y tiene una proporción en número de espermatozoides mucho menor. Su única función es lubricar las paredes de la uretra para después poder facilitar la expulsión del eyaculado(12).

2. OBJETIVOS.

El primer objetivo del trabajo es clasificar y describir las características, criterios de aplicación y ventajas y limitaciones las diferentes metodologías para la identificación de fluido seminal en el contexto de la genética forense.

El segundo objetivo de este trabajo es analizar las tendencias actuales en investigación para la identificación de fluido seminal en el contexto de la genética forense.

3. METODOLOGÍA.

En función de los objetivos descritos en el apartado anterior se realizaron dos búsquedas principales:

Primer objetivo: descripción y clasificación de las diferentes metodologías para la identificación de fluido seminal en el contexto de la genética forense. Para ello se realizaron dos búsquedas bibliográficas entre los meses de abril y mayo de 2023 y se identificaron las fuentes bibliográficas utilizando la base de datos de PubMed.

- A los resultados se le aplicaron los siguientes filtros a través del propio motor de búsqueda de PubMed:
  - Tipo de estudio: revisión y revisión sistemática.
  - Resumen disponible.
  - Texto final publicado.
  - Publicados en los últimos 10 años.
  - Idiomas: español o inglés.
  - Estudios en humanos.
- Posteriormente, se realizó un segundo filtrado de las referencias, tras la lectura del resumen por parte del analista, aplicando los siguientes criterios:
  - Relevantes para la temática.
  - Artículo disponible para estudiantes de la USC o de acceso gratuito universal.

La primera búsqueda se llevó a cabo utilizando las palabras clave: "*body*", "*fluid*", "*identification*" y "*forensic*". En la búsqueda inicial se encontraron 18 artículos. Tras el análisis de los resúmenes se descartaron 6 artículos por no ceñirse a la temática del estudio o no hallarse disponibles. El resultado final fue la inclusión de 12 artículos.

La segunda búsqueda, más genérica, se llevó a cabo utilizando las palabras clave: "*semen*" y "*forensic*". En la búsqueda inicial se encontraron 11 artículos, de los que tras el análisis de los resúmenes se descartaron 7 artículos por no ceñirse a la temática del estudio o no hallarse disponibles. El resultado final fue la inclusión de 4 artículos.

Finalmente se comprobó que artículos se solapaban en los resultados de ambas búsquedas, siendo el resultado de 1 coincidencia. De esta manera, el número total de artículos revisados fue de 15.

A partir de estas referencias se han definido las clasificaciones y, cuando fue necesario, se acudió a artículos citados en estas revisiones

para completar las descripciones de las metodologías, así como a la consulta de fuentes online relevantes.

Segundo objetivo: análisis de las tendencias actuales en investigación para la identificación de fluido seminal en el contexto de la genética forense. Para ello se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos de PubMed entre los meses de abril y mayo de 2023.

- A los resultados se le aplicaron los siguientes filtros a través del propio motor de búsqueda de PubMed:
    - Resumen disponible.
    - Texto final publicado.
    - Publicados en los últimos 5 años.
    - Estudios en humanos.
    - Idiomas: español o inglés.
- Posteriormente, se realizó un segundo filtrado de las referencias, tras la lectura del resumen por parte del analista, aplicando los siguientes criterios
    - Relevantes para la temática.
    - Artículo disponible para estudiantes de la USC o de acceso gratuito universal.
    - Presentación de un nuevo ensayo para la detección de semen.

La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo utilizando las siguientes palabras clave: "*fluid identification*" y "*semen*". En la búsqueda inicial se encontraron 61 artículos. Se descartaron 14 artículos por no ceñirse a la temática del estudio o no hallarse disponibles y 11 por no tratarse de nuevos ensayos para la detección de semen. El número final de artículos obtenidos fue de 36.

Dichos artículos fueron analizados para extraer la siguiente información: tipo de metodología, referencia, año, otros fluidos identificados, número de marcadores, número de marcadores de identificación de semen y enumeración de estos y comentarios sobre la técnica utilizada para el análisis genético.

Los datos recuperados durante la exploración de las bases de datos mencionadas previamente fueron archivados en un repositorio utilizando el software Zotero. En una primera instancia, se llevó a cabo una inspección exhaustiva de todas las entradas con el propósito de eliminar los resultados duplicados. Posteriormente, se procedió a descartar aquellos artículos que no se ajustaban adecuadamente a los criterios de revisión, mientras que se seleccionaron aquellos que se consideraron más pertinentes para el estudio y se incorporaron en una biblioteca común. Por último, se verificó que ninguno de los artículos previamente descartados contuviera información relevante para la presente revisión, lo que condujo a la creación de una biblioteca final. Una vez establecida la biblioteca, se localizaron todos los artículos incluidos con el fin de llevar a cabo su revisión, registro y análisis de datos.

4. DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE FLUIDO SEMINAL:

En genética forense, se utilizan dos tipos principales de pruebas para determinar la presencia o ausencia de marcadores genéticos en una muestra y establecer la identidad de un individuo: las pruebas orientativas y las pruebas confirmatorias.

- Test orientativos/presuntivos: son análisis preliminares con una alta sensibilidad que nos ayudan a localizar la mancha, pero es necesario confirmar posteriormente si es semen mediante otro método de identificación que sea confirmatorio, ya que tienden a producir una alta cantidad de falsos positivos. Son pruebas rápidas y menos costosas que las confirmatorias, cuya función es descartar rápidamente aquellas muestras que no coinciden con el perfil genético buscado.

Dentro de este tipo se encuentran el resto de los métodos descritos en el siguiente apartado y que no se mencionan dentro de los test confirmatorios.

- Test confirmatorios: permiten afirmar con un alto nivel de certeza que la mancha que se analiza en el proceso de genética forense es realmente semen, por lo que son muy específicos. Estas pruebas suelen ser más complejas y tienen un coste mayor. Se centran en analizar y detectar marcadores genéticos específicos de la muestra. Generalmente se realizan primero los tests presuntivos por su menor coste y si estos resultan positivos es cuando se realiza un test confirmatorio para poder afirmar con seguridad y validar que hay semen en la muestra.

  Dentro de estos se encuentran la microscopía, y el de la semenogelina, los cuales se describirán en profundidad en el siguiente apartado.

4.1. BASADOS EN LA VISUALIZACIÓN.

4.1.1. Fuentes de luz alternativas.

Es una prueba de detección rápida basada en fluorescencia, la propiedad de absorber luz de longitud de onda corta y transformarla en luz de longitud de onda larga. Para ello, se utiliza una fuente de luz que emite ondas entre los 310 y 650 nm. El semen tiene un amplio espectro de excitación, ya que cuando se aplica luz UV (ultravioleta) sobre él usando longitudes de onda de entre 300 y 400 nm, sus proteínas y ácidos nucleicos son capaces de excitarse emitiendo fluorescencia, permitiendo de esta manera su visualización.(13).

Este método en ciertos sentidos supone una ventaja sobre los métodos químicos habituales, ya que al ser una prueba portátil permite ahorrar tiempo y además es más fácil de utilizar. Es no invasiva, segura y sencilla. También tiene la capacidad de detectar manchas que no se ven a simple vista. Por otra parte, la detección de manchas de semen es posible en diferentes tipos de tejido tales como algodón, poliéster, nailon y lana. Incluso se puede identificar fluido seminal en los preservativos.

Una de sus principales limitaciones es que el no encontrar semen en la muestra no excluye la posibilidad de que lo haya. A la inversa, la presencia de fluorescencia, no siempre indica que tenga que estar presente el fluido seminal (14). Además, la capacidad para detectarlo varía dependiendo del color del material. Es más fácil si el fondo sobre el que se observan las manchas es de color blanco. Materiales oscuros y/o muy absorbentes dificultan la precisión de la prueba. Se debe tener en cuenta la posibilidad de que la ropa o los diferentes elementos analizados estén contaminados por otro tipo de sustancias que también emiten fluorescencia (como la orina o detergentes) y podrían llevar a incurrir en falsos positivos.

El uso de gafas de colores (naranja, amarillo, rojo) en combinación con la fuente de luz permite incrementar la posibilidad de distinguir las manchas de semen, debido a que aumentan el contraste y mejoran la visibilidad de la fluorescencia(15).

Hay diferentes tipos de marcas de luces forenses entre las que destacan: Polilight, Bluemaxx BM500, Mineralight y Luxeon. La que mejores resultados ha aportado es la combinación de Polilight con gafas de color naranja ya que es la que detecta el semen en una mayor cantidad de superficies distintas. Por otra parte, Bluemaxx BM500 ha conseguido buenos resultados a la hora de detectar manchas de semen en tela blanca. El resto son inferiores en cuanto a los resultados obtenidos (16).

Como conclusión, las fuentes de luz alternativa son de utilidad cuando se combinan con otros métodos de detección, ya que estas sirven principalmente para localizar las manchas, pero no permiten identificar el fluido con seguridad, por lo que se trataría por lo tanto de un test de tipo orientativo.

4.1.2. Microscopía y tinciones.

Es el *gold* estándar dentro de las técnicas de confirmación. Se basa en la observación directa de los espermatozoides a través del microscopio. Generalmente se suele emplear primero un test de presunción como el de la fosfatasa ácida, y después se comprueba mediante este método.

Principalmente se usa la técnica de tinción llamada "árbol de navidad", el resultado es positivo si se observa al menos un espermatozoide, negativo si no observas ninguno, y potencialmente positivo si aparecen células con características semejantes a las células espermáticas (17). Su nombre se debe a que las cabezas de los espermatozoides quedan coloreadas de rojo y las colas de verde (8). Para llevar a cabo este proceso, se coloca la muestra en un portaobjetos, se añade el colorante Kernechtrol, que teñirá las cabezas de rojo (también llamado Rojo rápido nuclear), se deja actuar 20 minutos y se lava con agua destilada, posteriormente se añade Pícrico índigo carmín, que teñirá las colas de verde, se deja actuar 10-15 segundos y se aclara con etanol al 95%, tras el secado ya será posible observar los espermatozoides al microscopio.

Otras tinciones empleadas son la hematoxilina-eosina, la de Papanicolau o la de Wright.

Los factores principales que pueden llevar a fallos en esta técnica son la habilidad de observación del investigador, el volumen de espermatozoides que se encuentran en la muestra y el tiempo que ha pasado desde la eyaculación del semen.

También se pueden obtener falsos negativos en el supuesto de que el individuo sea azoospérmico tanto por causas naturales como por vasectomía.

Una técnica novedosa dentro de las metodologías de microscopía es el SPERM HY-LITER™ . Se trata de una técnica de fluorescencia microscópica, que requiere el uso de un microscopio especializado. Se utiliza un reactivo denominado isotiocianato de fluorosceína verde, que es un anticuerpo monoclonal que se dirige específicamente frente a antígenos de la membrana celular de los espermatozoides y los tiñe de color fluorescente. Su ventaja es que permite detectar pocas células espermáticas dentro de muestras con grandes cantidades de células vaginales (18).

4.1.3. Espectroscópicos.

Se define la espectroscopia como el estudio de la radiación emitida por la sustancia que tenemos como muestra. Los diferentes tipos de espectroscopia depende de la energía radiante implicada y de su longitud de onda. Para el estudio del semen destaca la espectroscopia Raman y la infrarroja.

La espectroscopia Raman sirve para identificar fluidos de manera no destructiva y es un test confirmatorio que permite obtener los resultados rápidamente (19). Basa su acción en la dispersión inelástica de la radiación procedente de una luz láser de baja intensidad y monocromática (20).

Al principio sólo se estudiaba para detectar sangre con propósitos de aplicación a la clínica, pero en los últimos años han aumentado los estudios sobre su utilidad a la hora de analizar fluidos corporales. Con los avances recientes, se ha conseguido que esta técnica identifique fármacos, fibras, pintalabios e incluso lubricantes de preservativos (lo cuál podría ser útil en algunos casos de violencia sexual).

Sus ventajas son que se necesitan muestras muy pequeñas para el análisis, con picogramos llega, no necesita reactivos ni ningún tipo de pretratamiento, no presenta interferencia con el agua y es capaz de detectar muestras heterogéneas. No es tan sensible como la espectroscopia de fluorescencia, pero si tiene una mayor especificidad y es más selectiva.

En cuanto al análisis del semen mediante esta técnica, el estudio llevado a cabo por Virkler y Lednev demostró que una muestra de semen seco contenía tirosina, colina y fosfato de espermina, lo que nos permite diferenciarlo de otros fluidos biológicos (21).

Actualmente existen espectrómetros de Raman portátiles, que principalmente se usan para identificar explosivos y drogas, pero se prevé que un futuro también puedan ser útiles para el análisis forense de identificación de fluidos(22).

Por otro lado, existe la espectroscopia infrarroja. En el espectro del semen, los componentes principales resultaron ser la albúmina y la fosfatasa ácida, esta última también está presente en fluidos vaginales lo que podría provocar falsos positivos, pero, aunque ambos espectros sean similares tienen las diferencias necesarias para poder distinguirlos. A diferencia de la espectroscopia Raman, esta técnica se lleva utilizando durante décadas de forma rutinaria para el diagnóstico clínico. De todas formas, hay muchos menos estudios sobre esta técnica, así que se necesitan más análisis para determinar de manera certera cual es el espectro de cada fluido corporal(23).

Por último, hay que destacar que una de las que está siendo más estudiadas en la actualidad es la espectrometría de masas. Esta basa su acción en la extracción y digestión de proteínas mediante reactivos químicos consiguiendo la posterior separación e identificación de estas gracias a un láser asistido por matriz. En esta técnica los principales marcadores utilizados para la detección de fluido seminal fueron la semenogelina-1 y la semenogelina-2. Comparando los otros métodos espectroscópicos mencionados anteriormente con la espectrometría de masas, es importante incidir en las desventajas de esta última, ya que se trata de un proceso destructivo y lento (la separación de las proteínas dura al menos 40 minutos)(20).

4.2. BASADOS EN EL ESTUDIO DE PROTEÍNAS:

Dentro de este grupo destaca el test de la fosfatasa ácida seminal (SAP). La fosfatasa ácida es una fosfomonoesterasa no específica, secretada por la glándula prostática y que se encuentra en grandes cantidades en el fluido seminal. La SAP es una enzima que es capaz de catalizar la hidrólisis de grupos fosfato dando lugar a un producto que interaccionará con una sal cromógena para lograr el cambio de color. La actividad de la fosfatasa ácida es entre 500 y 1000 veces mayor en el semen que en cualquier otro fluido biológico del organismo humano (7). La fosfatasa ácida seminal puede detectarse en la vagina hasta 72 horas después del coito.

Para su detección se utiliza una prueba química que se basa en la detección de enzimas mediante un estudio del cambio de color de la muestra. Tenemos diferentes tipos de mezcla sustrato/revelador de color, entre ellos la más utilizada es la prueba rápida de la Brentamina (8). Otros métodos son la reacción de alfa-naftol con sal de diazonio (*Fast Red AL*), la beta-naftol con sal de diazonio (*Fast Garnet B*) o la de ZnCl2 con sal de tetrazolio (*Fast Blue B*)(24).

No sirve como prueba confirmatoria, es un test presuntivo. Después de obtener un resultado positivo en esta prueba (un cambio de color), es necesario confirmarlo mediante otros métodos. Actualmente está comercializado el test del reactivo SM, que se usa en las investigaciones de crímenes sexuales de todo el mundo(9).

Dentro de los inconvenientes de esta técnica cabe destacar los siguientes: es una prueba operador-dependiente, de manera que su eficiencia tendrá relación con la experiencia y habilidad del investigador, además, retrasos en la lectura de la prueba pueden provocar la aparición de falsos positivos, por ello lo ideal es detectar el resultado positivo durante los 5-30 segundos posteriores a la realización de la prueba (25). Otro problema, es que la SAP es una enzima, y como tal, puede degradarse por el calor, moho, productos químicos o putrefacción (8). También es importante destacar que otra fuente de aparición de falsos positivos es la posible confusión de la SAP con la fosfatasa ácida vaginal (VAP), que se genera de forma natural en la vagina a una baja concentración.

Se han empleado otros test de detección de fluido seminal basados en la actividad de otros enzimas como el test de la leucina aminopeptidasa (LAP) o el de la glicilprolina dipeptidasa (GDA), pero ninguno de ellos es tan popular como el test de la SAP.

4.2.1. Inmunocromatográficos.

4.2.1.1. Test del antígeno prostático específico.

El PSA, también conocido como p30, es una glucoproteína de cadena simple cuya función es mantener la licuefacción del semen. Se origina en las glándulas prostáticas y es secretado en el fluido seminal. Sus niveles en plasma varían entre 0.2 y 5.5 µg/L. Habitualmente se usa para la detección y control del cáncer de próstata, debido a que valores superiores a 4 µg/L hacen saltar las alarmas y se debe hacer un cribado para poder tratarlo con precocidad (26).

Se utiliza como prueba presuntiva, ya que tiene ciertas limitaciones. Se encuentra también presente en la leche materna, la orina y el sudor femeninos y es producido por las glándulas periuretrales de las mujeres (9). De todas formas, los niveles suelen estar por debajo del límite de detección de los métodos que se utilizan en la práctica forense de manera que se reducen los falsos positivos. Para el empleo de la PSA en genética forense no es tan importante su detección en niveles absolutos, sino la capacidad de detectarlo en muestras contaminadas, como piezas de ropa lavadas y cadáveres en descomposición, en los que podría encontrarse mezclado con otros fluidos corporales '(27).

Una excepción es el hecho de que el PSA se eleva en mujeres que están a tratamiento activo con anticonceptivos orales, sin necesidad de que hayan mantenido relaciones sexuales (28). También se ha detectado un aumento del PSA en un 30% de mujeres que padecen de cáncer de mama, y dentro de estas se asocia más a tumores benignos con receptores de hormonas positivos (29). Por ello es necesario elaborar sistemas con una alta sensibilidad que sean capaces de evitar la obtención de falsos positivos.

Una de las ventajas de su uso es que es que es posible detectar PSA en individuos azoospérmicos y en líquido preseminal (30)

Los ensayos iniciales para la detección de la PSA se basaban en pruebas de tipo ELISA, sin embargo, en la actualidad se están comercializando kits rápidos basados en reacciones antígeno-anticuerpo como el Biosign PSA test, OneStep ABAcard o SERATEC PSA Semiquant que son más sencillos de usar (8).

4.2.1.2. Test de la semenogelina.

La semenogelina es la proteína más abundante del plasma seminal humano y se produce en las vesículas seminales. Está formada por dos compuestos proteicos: semenogelina I (Sg-I) y semenogelina II (Sg-II). Su principal función es ralentizar el proceso de liberación de espermatozoides en el aparato reproductor femenino durante la licuefacción del semen, siendo esto posible al formar un coágulo con el plasma seminal. Este proceso ocurre en los 20 minutos posteriores a la eyaculación, y durante este, se produce la escisión de la semenogelina mediante la PSA, dando lugar a la α-inhibina, al antígeno específico de la vesícula seminal y al inhibidor de la motilidad del plasma seminal (32, 37).

La prueba de detección de la semenogelina es un test inmunocromatográfico y de tipo confirmatorio. Utiliza dos anticuerpos monoclonales específicos para la semenogelina. La forma de utilizar este método es la siguiente: se añade la muestra a la zona de la almohadilla de conjugado, lugar en el que los anticuerpos monoclonales se unen a la semenogelina en caso de que esté presente. Después, difunde hacia la zona de la membrana, que inicialmente no tiene ninguna raya visible. La línea de control indica que el test funciona correctamente, y cuando ambas líneas (tanto test como control) son coloreadas, es un indicador de que la prueba es positiva y que realmente hay semenogelina humana en la muestra. La intensidad de la línea se compara con un patrón de control, para asegurar que no haya mucha variabilidad entre distintos observadores. Finalmente, el fluido se retiene en la mecha. Para obtener unos resultados válidos, debe esperarse 10 minutos tras la adicción de la muestra para interpretar el test (32).

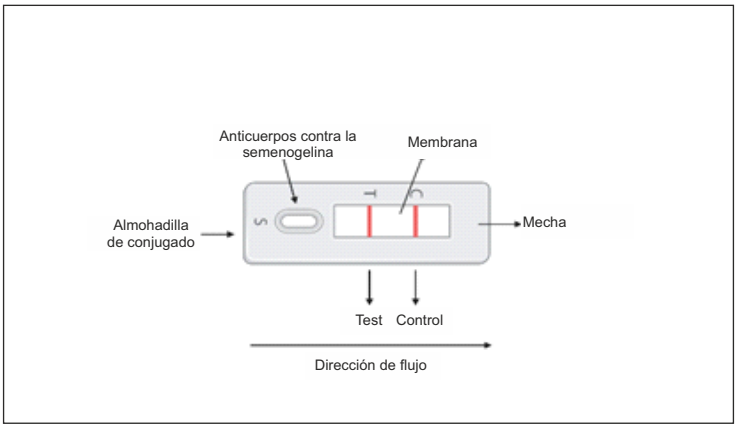


Figura 6. Test de detección de la semenogelina positivo. (Imagen creada con BioRender)

Puede dar falsos positivos, ya que la semenogelina también se encuentra presente en carcinomas, y en otras partes del cuerpo como los riñones, el músculo esquelético, el colon o la retina; aunque generalmente, esto no constituye un problema en un contexto forense. Además, la semenogelina tampoco está relacionada con ninguna enfermedad, a diferencia de la PSA que si se vincula con la hipertrofia y el cáncer de próstata. De esta manera no parece que tenga reacciones cruzadas con otros fluidos corporales humanos (33).

El test comercial más utilizado es el RSID-test ("*Rapid Stain Identification*" = Detección rápida de manchas"). En el estudio citado se compara su sensibilidad y especificidad en relación con el test comercial de detección del PSA, ABAcard p30. Los dos métodos utilizan la misma técnica de ensayo inmunocromatográfico de membrana. La sensibilidad demostrada por ambos métodos es parecida, siendo la del RSID un poco superior al ser capaz de detectar la semenogelina en diluciones de semen de 1:100000, mientras que el ABAcard sólo alcanza diluciones de 1:50000. El ABAcard p30 es capaz de detectar cantidades tan bajas de PSA como 4ng/mL, mientras que el RSID-test puede detectar semenogelina cuando la cantidad a analizar es superior a 1 µl de semen (33).

Otro test comercial empleado es el Nanotrap Sg, que tiene una sensibilidad similar al RSID-test. La principal ventaja de este kit es que consiguió demostrar la presencia de semenogelina en el 67% de las muestras que no contenían espermatozoides. La desventaja del Nanotrap Sg es que tras más de tres procesos de congelación y descongelación de la muestra, la sensibilidad caía varios niveles (34).

4.3. BASADOS EN LA BIOLOGÍA MOLECULAR.

4.3.1. Basados en ARN.

4.3.1.1. Basados en ARNm.

Los ARNm (ARN mensajero) son moléculas de ADN que desempeñan un papel fundamental en la síntesis de proteínas. A partir de una secuencia de ADN específica se obtiene una molécula de ARNm complementaria mediante un proceso llamado transcripción, de manera que se obtiene una secuencia de nucleótidos formada por los codones. Los codones son secuencias de tres nucleótidos

correspondientes a aminoácidos específicos que son reconocidos por los ARNt (ARN de transferencia). A medida que el ribosoma se desplaza a lo largo del ARNm, va reconociendo las secuencias de nucleótidos y ensamblando cadenas de aminoácidos para así sintetizar una proteína específica, siendo este proceso denominado traducción. Dependiendo de su función, las células transcriben los diferentes genes en diferentes cantidades, lo que permitirá diferenciar los tejidos y fluidos.

Hasta hace poco se pensaba que el ARN se degradaba con rapidez, pero recientemente se ha descubierto que es lo suficientemente estable y resistente como para poder ser empleado en la detección de fluidos biológicos en el análisis forense. En el estudio citado, se realizaron distintas pruebas que demuestran que el ARNm del semen se mantenía estable tras 180 días en todas las condiciones de temperatura, ambiente y luz. Su conservación era mejor cuando las muestras eran húmedas que en las secas, de hecho, se demostró que era recuperable durante al menos 547 días cuando se guardaban muestras húmedas en bolsas de plástico y se conservaban a temperatura ambiente. También se descubrió que era detectable hasta pasado el transcurso de 7 días en las muestras que se encontraban en un espacio exterior sin lluvia (35).

Se puede analizar el ARNm mediante la técnica RT-PCR combinando la utilización de la trancriptasa inversa para convertir ARN en ADN complementario con la posterior amplificación de los ácidos nucleicos mediante una PCR o reacción en cadena de la polimerasa. La PCR permite amplificar el material genético para analizar el ADN de la muestra, en este caso el obtenido a través de la transcripción inversa del ARNm. Para ello es necesario el ADN molde, nucleótidos, cebadores (llamados habitualmente "*primers*"), una ADN polimerasa y un pH y temperatura adecuados que se consiguen gracias al tampón y al termociclador. La primera fase consiste en la desnaturalización del ADN exponiéndolo a altas temperaturas de entre 90-95ºC. A continuación, sucede la fase de hibridación, en la que se baja la temperatura hasta los 40-60ºC para conseguir la unión de los cebadores. Por último, se realiza el proceso de extensión, en el que la ADN polimerasa incorpora nucleótidos a la cadena molde de ADN desnaturalizada previamente en el extremo 3'.

Las ventajas de este método sobre los análisis bioquímicos tradicionales son las siguientes: la posibilidad de coextraer ADN y ARN de la misma muestra, una mayor especificidad, mayor rapidez a la hora de realizar la prueba, menor consumo de recursos. Además, existe la posibilidad de realizar un análisis semiautomático y simultáneo de distintas pruebas ya que usan un formato inicial común, permitiendo que estos tests sean menos operador-dependientes. Otra capacidad de la RT-PCR es la detección de ARNm en muestras tanto de semen (con presencia de espermatozoides) como de fluido preseminal (con ausencia de espermatozoides)(36).

Entre los marcadores utilizados en esta técnica se encuentran los siguientes. Para los espermatozoides se pueden utilizar protaminas (proteínas implicadas en la condensación de la cromatina durante la formación de los espermatozoides), concretamente la protamina 2, ya que aporta mejores resultados en la transcripción del ARNm que la protamina 1. Independientemente de esto, ambas han demostrado una alta especificidad en la detección de espermatozoides y manchas de semen, dado que son marcadores que no se encuentran en manchas de sangre (tanto circulatoria como menstrual), saliva o tejido endometrial. Para el fluido preseminal se usan las transglutaminas (TGMs), que son proteínas que se encuentran por los distintos tejidos del organismo. En concreto, la transglutaminasa 4 (TGM4) es específica de la próstata y por ello es la elegida para el análisis del fluido preseminal (37).

La principal limitación de este método es la mayor inestabilidad de las proteínas del ARN en comparación con el ADN, debido a la ubicuidad de las ARNasas. Pero gracias a los avances en estudios descritos anteriormente, se ha descubierto que llevando a cabo técnicas en las que se aísla a la vez ADN y ARN procedente de la misma muestra, se pueden evitar estas limitaciones. Esto permite que a pesar de obtener manchas heterogéneas de distintos

fluidos, al analizarlos se pueda distinguir cuál es su procedencia(38).

La RT-PCR también sirve para la detección de otros fluidos biológicos tales como la saliva o la sangre. Esta última tiene una gran importancia en la ciencia forense, sobre todo en los casos de violencia sexual, ya que permite diferenciar la sangre procedente del aparato circulatorio, que podría aparecer en el escenario del crimen tras un traumatismo, de la sangre de origen menstrual(39).

4.3.1.2. Basados en ARNmi.

Los microARN son ARNs monocatenarios, pequeños, no codificantes, de entre 19 y 25 nucleótidos, que se unen al ARNm para inhibirlo e impedir la síntesis de proteínas. Los genes que codifican a los ARNmi se pueden encontrar en exones e intrones, de manera que aparecen patrones específicos para cada tejido(40).

Para el estudio de los fluidos corporales en genética forense se realiza una secuenciación de ARNmi a partir de perfiles de STR de la muestra. Para ello se transcribe el ARN a ADNc (ADN complementario), que posteriormente se purifica mediante electroforesis. El método elegido para llevar a cabo la detección es el mismo que el del ARNm, una RT-PCR. Mediante este análisis se diferencian con facilidad los niveles de expresión en sangre, saliva y semen; ya que los ARNmi son específicos de cada tejido y a la vez son diferentes entre individuos(41).

Las ventajas del ARNmi es que está protegido frente a las ARNasas y que tienen altos niveles de expresión. Muestran una gran estabilidad ante condiciones ambientales adversas (como cambios de temperatura o radiación UV). Sin embargo, su análisis aún es una técnica emergente, y es necesario elaborar una técnica estándar que aporte reproductibilidad y fiabilidad para poder aplicarlo en la práctica forense(42).

Existen diferentes tipos de marcadores para cada tipo de fluido corporal permitiendo que se puedan distinguir entre ellos. Concretamente del semen hay una gran cantidad de ARNmi específicos, destacando los siguientes: miR-888, miR-10b y miR135a(43).

4.4. BASADOS EN LA METILACIÓN DEL ADN.

El proceso de metilación del ADN consiste en la unión covalente de un grupo metilo (CH_3), cedido por la S-adenosil metionina (SAM), al carbono 5 de la citosina, siendo esta reacción catalizada por las ADN-metiltransferasas (DNMTs). Esta unión sucede en las zonas del ADN donde se encuentran los dinucleótidos de citosina y guanina (CpG), que se agrupan formando las "islas CpG". Dentro de las funciones de la metilación del ADN destacan las siguientes: capacidad de inhibir la expresión de genes, inactivación del cromosoma X, protección del genoma de la transcripción y tiene cierta actividad en la huella genómica o "*imprinting*". Así mismo, errores en la metilación del ADN están implicados en el desarrollo de diferentes enfermedades tales como cáncer, diabetes, desordenes psicológicos y enfermedades autoinmunes(44).

Para el análisis de estos patrones de metilación del ADN es necesario llevar a cabo un tratamiento del ADN mediante bisulfito, que permite diferenciar posteriormente mediante secuenciación o minisecuenciación aquellas citosinas metiladas de las no metiladas. Posteriormente se calcula el nivel de metilación de los diferentes loci analizados, lo que nos permitirá inferir el tejido de origen más probable de la muestra, ya que es un método que permite identificar diferentes fluidos al mismo tiempo (45).

Las ventajas de este método son las siguientes: posibilidad de crear un procedimiento estandarizado, sencillo y potencialmente automatizable (debido a que no es observador dependiente), en el que se evita el consumo de pruebas potenciales, ya que sólo es necesaria una pequeña porción de ADN. Todas estas características, junto con la alta sensibilidad y especificidad para la detección de semen, permiten conseguir una reducción de los costes. Además, destaca la mayor estabilidad del ADN en comparación con las proteínas utilizadas en

otros métodos. También cabe destacar la posibilidad de analizar varios fluidos diferentes a la vez en la misma prueba.

La principal desventaja es que es un método que se basa en la cuantificación de la metilación en diferentes marcadores, lo cual supondría un problema en muestras contaminadas o mezclas de diferentes fluidos; mientras que otras técnicas, como por ejemplo el análisis al microscopio sí que permiten la detección de semen independientemente de que sea un componente minoritario dentro de la mezcla (46). Debido a esto, en caso de obtener resultados no concluyentes, se podría utilizar el análisis visual para confirmar la existencia de semen. También hay que tener en cuenta que se pueden producir falsos positivos en los casos en los que el individuo sea azoospérmico (47). Además, la conversión con bisulfito es una técnica muy agresiva que fragmenta el ADN y reduce su complejidad, por lo que las cantidades de ADN inicial requeridas son mayores que para los análisis de ADN destinados a la obtención de un perfil identificativo.

Para la identificación de los fluidos corporales se emplean los tDMR (*tissue-specific Differentially Methylated Region*), que son regiones del ADN que muestran diferentes patrones de metilación, siendo específicos de cada tipo de tejido y permitiendo la diferenciación entre ellos. Dentro de los marcadores que actualmente están siendo estudiados para la identificación de semen destacan FGF7, DACT1, USP49 y ZC3H12D por su elevada especificidad, sin embargo, aún se necesitan más estudios para su correcta aplicación en la genética forense (48). Una de las técnicas novedosas que se podría emplear es la MPS, que es capaz de combinar la detección de marcadores de diferentes tejidos (49), y además resulta útil a la hora de estimar el tiempo que lleva la mancha en una determinada superficie y para determinar la edad del donante (50).

Otras utilidades de la metilación del ADN adicionales a la identificación de fluidos corporales son las siguientes: determinación de la edad del donante de la muestra, detección de ADN artificial y distinción de gemelos monocigóticos (51).

4.5. MICROBIOMAS.

Es una técnica emergente de la que aún no existen demasiados estudios. La definición de microbioma es la comunidad de microorganismos con sus elementos genéticos que ocupan un hábitat específico. Para su estudio se utiliza técnicas como la MPS que permite el análisis simultáneo de las secuencias, siendo posible combinar un gran número de muestras y marcadores, y se estudia la presencia de los diferentes organismos en la muestra utilizando loci que permiten diferenciar especies (52). Las posibles aplicaciones de los microbiomas en genética forense son las siguientes: determinar la procedencia geográfica, ancestralidad y estilo de vida del individuo del que procede la muestra, determinar el fluido biológico presente en el vestigio, determinar la causa y fecha de muerte, investigar crímenes de bioterrorismo o buscar indicadores de agresión sexual (53).

Las bacterias que aparecen predominantemente en el semen son: *Prevotella*, *Lactobacillus* y *Pseudomonas (54).* Actualmente, falta aún mucha investigación respecto a las muestras de semen. Para poder implementar su aplicación generalizada al mundo de la genética forense se deben establecer protocolos estándar sobre la recolección y mantenimiento de las muestras, que posteriormente tendrán que ser validados. También es necesaria la creación de una base de datos fiable y completa para poder interpretar los resultados correctamente (55).

Los estudios más avanzados actualmente se basan en el análisis del microbioma de la piel, la saliva o los fluidos vaginales para la identificación de individuos (56).

5. ANÁLISIS NUEVAS TENDENCIAS.

Dentro de este apartado el objetivo es describir y clasificar las tendencias de los nuevos ensayos que han sido desarrollados durante los últimos 5 años para la detección de fluido seminal y que permiten mejorar la sensibilidad y especificidad de los métodos habituales.

En primer lugar, los 36 estudios se han clasificado en función de la metodología utilizada descrita previamente en el apartado 4, dando lugar a los siguientes resultados (Figura 8):

- Inmunocromatográficos: 2
- Espectrometría de masas: 2
- Metilación de ADN: 8
- ARNmi: 8
- Microbiomas: 3
- mRNA: 13

Figura 8. Clasificación en función de la metodología utilizada de los nuevos ensayos de detección de fluido seminal desarrollados en los últimos 5 años.

De los métodos **inmunocromatográficos** sólo se han encontrado dos estudios, uno basado en reacciones antígeno-anticuerpo y otro en métodos de fluorescencia, pero ambos utilizan la semenogelina como biomarcador del fluido seminal.

En relación con la **espectrometría de masas,** ambos estudios emplean como biomarcador seminal la semenogelina-2 y que basan su acción en la digestión de la tripsina.

En la actualidad los métodos más ampliamente investigados son los basados en biología molecular, incluyendo la metilación de ADN, el estudio de los microbiomas y la detección de ARNmi, y destacando el estudio de los **ARNm.** Se han identificado una serie de biomarcadores de ARNm que son específicos del fluido seminal, siendo los más utilizados: PRM1, PRM2 Y SEMG-1.

En cuanto a los **ARNmi**, destaca la gran cantidad de diferentes marcadores identificados para la detección de fluido seminal, siendo el de uso más generalizado el miR-888-5p, y empleando generalmente la técnica de RT-qPCR.

Para los ensayos basados en **metilación del ADN**, todos los estudios incluyen marcadores específicos de la saliva en adicción al semen. Los marcadores de fluido seminal mayormente empleados son SE3 y SE4. Las pruebas que están siendo más utilizadas son el ensayo de metilación multiplex mediante minisecuenciación o *SNaPshot* y la *ARMS-PCR* (*amplification refractory mutation system-PCR*), previa conversión del ADN con bisulfito.

De entre los métodos basados en biología molecular, el que cuenta con menos estudios publicados recientemente es el análisis de los **microbiomas,** esto se debe a que abundan los

estudios referentes a otros fluidos de importancia biológica, sin embargo, su capacidad de analizar la presencia de semen aún está siendo investigada. Las bacterias más frecuentemente detectadas en el fluido seminal son los *Staphylococcus* y los *Corynebacterium*, empleando para ello la amplificación de 16S ADNr (ADN recombinante).

La tendencia generalizada entre las metodologías basadas en biología molecular es que los ensayos permitan la diferenciación simultánea de otros fluidos de importancia biológica, destacando: fluido vaginal, sangre venosa, sangre menstrual y saliva.

Otros fluidos menos utilizados son: heces, piel, orina y secreciones nasales. Es sumamente importante este gran avance, ya que al poder analizar diferentes fluidos al mismo tiempo se consigue reducir la cantidad de muestra necesaria, y con ello, disminuir el tiempo de realización de la prueba y también los costes.

6. CONCLUSIONES.

La detección de fluido seminal es de extrema importancia en la genética forense, destacando su papel en los casos de investigaciones relacionadas a delitos sexuales, ya que confirmar la naturaleza del fluido puede ser un elemento crucial en la reconstrucción de los hechos.

Las técnicas de microscopía óptica y las luces forenses UV han sido y siguen siendo ampliamente utilizadas, pero son altamente dependientes de la habilidad y experiencia del investigador. Las técnicas inmunocromatográficas para la detección de fluido seminal, tales como la detección de la PSA o de la semenogelina, son altamente sensibles y por ello son las más ampliamente utilizadas en los laboratorios de genética forense.

Los métodos de identificación de fluido seminal que están siendo más ampliamente estudiados en la actualidad son los basados en biología molecular, especialmente la detección de mRNA, en ensayos de tipo multiplex que incluyen varios *targets* para la detección de fluido seminal y otros fluidos de interés en genética forense.

Los métodos basados en biología molecular permiten la identificación simultánea de varios fluidos corporales en un mismo ensayo, reduciendo la cantidad de muestra utilizada, lo que evita tener que priorizar unos análisis frente a otros en casos en los que el vestigio biológico es limitante. Sin embargo, para su aplicación en la rutina forense se requiere un mayor desarrollo, estandarización y validación.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. CARRACEDO A, SALAS A, LAREU MV. Problemas y retos de futuro de la genética forense en el siglo XXI. Cuadernos de Medicina Forense. junio de 2010;16(1-2):31-5.

2. GOODWIN, WILLIAM, LINACRE, ADRIAN, HADI, SIBTE. An introduction to Forensic Genetics. 2.a ed. Hoboken-New Jersey: Wiley-Blackwell; 2010.

3. LÓPEZ CB. DOSSIER I: El ADN: una certeza científica que nos hace únicos (parte I). Quadernos de criminología: revista de criminología y ciencias forenses. 2014;(27):11-5.

4. CARRACEDO Á. La variabilidad genética de los micro y minisatélites y su aplicación en medicina legal [Internet]. Universidade da Coruña; 1996 [citado 3 de abril de 2023]. Disponible en: https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/9461

5. DECORTE R. Genetic identification in the 21st century--Current status and future developments. Forensic Sci Int. 10 de septiembre de 2010;201(1-3):160-4.

6. SIJEN T, HARBISON S. On the Identification of Body Fluids and Tissues: A Crucial Link in the Investigation and Solution of Crime. Genes (Basel). 28 de octubre de 2021;12(11):1728.

7. AN JH, SHIN KJ, YANG WI, LEE HY. Body fluid identification in forensics. BMB Rep. octubre de 2012;45(10):545-53.

8. VIRKLER K, LEDNEV IK. Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. Forensic Sci Int. 1 de julio de 2009;188(1-3):1-17.

9. SAKURADA K, WATANABE K, AKUTSU T. Current Methods for Body Fluid Identification Related to Sexual Crime: Focusing on Saliva, Semen, and Vaginal Fluid. Diagnostics (Basel). 14 de septiembre de 2020;10(9):693.

10. LÓPEZ GARCÍA MJ, URBANO FELICES A, CÁRDENAS POVEDANO M. Manual de laboratorio para el análisis del semen [Internet]. 1st ed. OmniaScience; 2012 [citado 15 de enero de 2023]. Disponible en: https://www.omniascience.com/books/index.php/scholar/catalog/book/16

11. DU PLESSIS SS, GOKUL S, AGARWAL A. Semen hyperviscosity: causes, consequences, and cures. Front Biosci (Elite Ed). 1 de enero de 2013;5(1):224-31.

12. RODRIGUEZ-MARTINEZ H, MARTINEZ EA, CALVETE JJ, PEÑA VEGA FJ, ROCA J. Seminal Plasma: Relevant for Fertility? Int J Mol Sci. 22 de abril de 2021;22(9):4368.

13. VANDENBERG N, VAN OORSCHOT RAH. The use of Polilight in the detection of seminal fluid, saliva, and bloodstains and comparison with conventional chemical-based screening tests. J Forensic Sci. marzo de 2006;51(2):361-70.

14. FINNIS J, DAVIDSON G, FRASER I, MURPHY C, HARGREAVES C, STEVENSON N, et al. Illuminating the benefits and limitations of forensic light sources. Sci Justice. enero de 2023;63(1):127-34.

15. NELSON DG, SANTUCCI KA. An alternate light source to detect semen. Acad Emerg Med. octubre de 2002;9(10):1045-8.

16. CHUEN LW, EE KB. Forensic Light Sources for Detection of Biological Evidences in Crime Scene Investigation: A Review. 2010;1.

17. BASSET P, BLANDIN P, GRINI A, DELEMONT S, SAMIE L, CASTELLA V. A simplified protocol for the detection of blood, saliva, and semen from a single biological trace using immunochromatographic tests. Forensic Sci Med Pathol. 1 de junio de 2022;18(2):141-8.

18. WESTRING CG, WIUF M, NIELSEN SJ, FOGLEMAN JC, OLD JB, LENZ C, et al. SPERM HY-LITERTM for the identification of spermatozoa from sexual assault evidence. Forensic Sci Int Genet. septiembre de 2014;12:161-7.

19. GEORGE N, SINGH H, JOTANIYA R, PANDYA SR. Raman spectroscopy for the determination of forensically important bio-fluids. Forensic Sci Int. noviembre de 2022;340:111441.

20. ZAPATA F, FERNÁNDEZ DE LA OSSA MÁ, GARCÍA-RUIZ C. Emerging spectrometric techniques for the forensic analysis of body fluids. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 1 de enero de 2015;64:53-63.

21. VIRKLER K, LEDNEV IK. Raman spectroscopic signature of semen and its potential application to forensic body fluid identification. Forensic Sci Int. 15 de diciembre de 2009;193(1-3):56-62.

22. SIKIRZHYTSKI V, SIKIRZHYTSKAYA A, LEDNEV IK. Advanced statistical analysis of Raman spectroscopic data for the identification of body fluid traces: Semen and blood mixtures. Forensic Science International. 10 de octubre de 2012;222(1):259-65.

23. ORPHANOU CM, WALTON-WILLIAMS L, MOUNTAIN H, CASSELLA J. The detection and discrimination of human body fluids using ATR FT-IR spectroscopy. Forensic Sci Int. julio de 2015;252:e10-16.

24. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology, and Biochemistry.

25. PEONIM V, WORASUWANNARAK W, SUJIRACHATO K, TEERAKAMCHAI S, SRISONT S, UDNOON J, et al. Comparison between prostate specific antigen and acid phosphatase for detection of semen in vaginal swabs from raped women. J Forensic Leg Med. agosto de 2013;20(6):578-81.

26. POSADA Y. Semenogelina y Antígeno Específico de Próstata en Semen. 2011.

27. HEALY DA, HAYES CJ, LEONARD P, MCKENNA L, O'KENNEDY R. Biosensor developments: application to prostate-specific antigen detection. Trends in Biotechnology. 1 de marzo de 2007;25(3):125-31.

28. MANNELLO F, CONDEMI L, CARDINALI A, BIANCHI G, GAZZANELLI G. High Concentrations of Prostate-Specific Antigen in Urine of Women Receiving Oral Contraceptives. Clinical Chemistry. 1 de enero de 1998;44(1):181-3.

29. YU H, DIAMANDIS EP, MONNE M, CROCE CM. Oral Contraceptive-induced Expression of Prostate-specific Antigen in the Female Breast ( ). Journal of Biological Chemistry. 24 de marzo de 1995;270(12):6615-8.

30. KELLY MC. Pre-ejaculate fluid in the context of sexual assault: A review of the literature from a clinical forensic medicine perspective. Forensic Sci Int. enero de 2021;318:110596.

31. SATO I, YOSHIIKE M, YAMASAKI T, YOSHIDA K, TAKANO S, MUKAI T, et al. A dot-blot-immunoassay for semen identification using a polyclonal antibody against semenogelin, a powerful seminal marker. Forensic Sci Int. 15 de octubre de 2001;122(1):27-34.

32. OLD J, SCHWEERS BA, BOONLAYANGOOR PW, FISCHER B, MILLER KWP, REICH K. Developmental validation of RSIDTM-Semen: a lateral flow immunochromatographic strip test for the forensic detection of human semen. J Forensic Sci. marzo de 2012;57(2):489-99.

33. PANG BCM, CHEUNG BKK. Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. Forensic Science International. 14 de junio de 2007;169(1):27-31.

34. SATO I, BARNI F, YOSHIIKE M, RAPONE C, BERTI A, NAKAKI S, et al. Applicability of Nanotrap Sg as a semen detection kit before male-specific DNA profiling in sexual assaults. Int J Legal Med. julio de 2007;121(4):315-9.

35. Setzer M, Juusola J, Ballantyne J. Recovery and stability of RNA in vaginal swabs and blood, semen, and saliva stains. J Forensic Sci. marzo de 2008;53(2):296-305.

36. Juusola J, Ballantyne J. Messenger RNA profiling: a prototype method to supplant conventional methods for body fluid identification. Forensic Sci Int. 12 de agosto de 2003;135(2):85-96.

37. FLEMING RI, HARBISON S. The development of a mRNA multiplex RT-PCR assay for the definitive identification of body fluids. Forensic Science International: Genetics. 1 de julio de 2010;4(4):244-56.

38. ALVAREZ M, JUUSOLA J, BALLANTYNE J. AN MRNA and DNA co-isolation method for forensic casework samples. Anal Biochem. 15 de diciembre de 2004;335(2):289-98.

39. HAAS C, KLESSER B, MAAKE C, BÄR W, KRATZER A. mRNA profiling for body fluid identification by reverse transcription endpoint PCR and realtime PCR. Forensic Sci Int Genet. marzo de 2009;3(2):80-8.

40. SIJEN T. Molecular approaches for forensic cell type identification: On mRNA, miRNA, DNA methylation and microbial markers. Forensic Sci Int Genet. septiembre de 2015;18:21-32.

41. PETERSEN CH, HJORT BB, TVEDEBRINK T, KIELPINSKI LJ, VINTHER J, MORLING N. Body fluid identification of blood, saliva and semen using second generation sequencing of micro-RNA. Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 1 de enero de 2013;4(1):e204-5.

42. SILVA SS, LOPES C, TEIXEIRA AL, CARNEIRO DE SOUSA MJ, MEDEIROS R. Forensic miRNA: potential biomarker for body fluids? Forensic Sci Int Genet. enero de 2015;14:1-10.

43. GLYNN CL. Potential applications of microRNA profiling to forensic investigations. RNA. enero de 2020;26(1):1-9.

44. KADER F, GHAI M, OLANIRAN AO. Characterization of DNA methylation-based markers for human body fluid identification in forensics: a critical review. Int J Legal Med. enero de 2020;134(1):1-20.

45. FRUMKIN D, WASSERSTROM A, BUDOWLE B, DAVIDSON A. DNA methylation-based forensic tissue identification. Forensic Sci Int Genet. noviembre de 2011;5(5):517-24.

46. WASSERSTROM A, FRUMKIN D, DAVIDSON A, SHPITZEN M, HERMAN Y, GAFNY R. Demonstration of DSI-semen--A novel DNA methylation-based forensic semen identification assay. Forensic Sci Int Genet. enero de 2013;7(1):136-42.

47. LARUE BL, KING JL, BUDOWLE B. A validation study of the Nucleix DSI-Semen kit--a methylation-based assay for semen identification. Int J Legal Med. marzo de 2013;127(2):299-308.

48. KADER F, GHAI M. DNA methylation and application in forensic sciences. Forensic Sci Int. abril de 2015;249:255-65.

49. RICHARDS R, PATEL J, STEVENSON K, HARBISON S. Evaluation of massively parallel sequencing for forensic DNA methylation profiling. Electrophoresis. noviembre de 2018;39(21):2798-805.

50. HAAS C, NEUBAUER J, SALZMANN AP, HANSON E, BALLANTYNE J. Forensic transcriptome analysis using massively parallel sequencing. Forensic Sci Int Genet. mayo de 2021;52:102486.

51. GRŠKOVIĆ B, ZRNEC D, VICKOVIĆ S, POPOVIĆ M, MRŠIĆ G. DNA methylation: the future of crime scene investigation? Mol Biol Rep. julio de 2013;40(7):4349-60.

52. YANG Y, XIE B, YAN J. Application of next-generation sequencing technology in forensic science. Genomics Proteomics Bioinformatics. octubre de 2014;12(5):190-7.

53. SCHMEDES SE, SAJANTILA A, BUDOWLE B. Expansion of Microbial Forensics. J Clin Microbiol. agosto de 2016;54(8):1964-74.

54. WENG SL, CHIU CM, LIN FM, HUANG WC, LIANG C, YANG T, et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. PLoS One. 2014;9(10):e110152.

55. OLIVEIRA M, AMORIM A. Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects. Appl Microbiol Biotechnol. diciembre de 2018;102(24):10377-91.

56. CHO HW, EOM YB. Forensic Analysis of Human Microbiome in Skin and Body Fluids Based on Geographic Location. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11:695191.

¿NIÑO ZARANDEADO O LESIONES ACCIDENTALES?
SHAKEN BABY OR ACCIDENTAL INJURIES?

BOTET GÓMEZ R.[1], SANCHEZ BOTET T.[2], VALVERDE-GRIMALDI GALVÁN A.[3], LÓPEZ GARCÍA P.L.[4], SÁNCHEZ UGENA F.[5]

RESUMEN.
El diagnóstico del Síndrome del niño sacudido es sumamente delicado. Las repercusiones judiciales, policiales y asistenciales son de un interés extraordinario. Presentamos el caso de un niño de 2 años con unas circunstancias y lesiones que podrían hacer sospechar un posible caso de maltrato infantil y/o síndrome del niño sacudido. Tras una exhaustiva investigación policial, médico forense y social y oír las declaraciones de los implicados, se llegó a la conclusión de que las lesiones son perfectamente compatibles con un origen accidental, tal como referían los testigos. Valoramos las características anatomo-morfológicas de las lesiones retinianas para el diagnóstico diferencial.

PALABRAS CLAVE: HEMORRAGIAS RETINIANAS. NIÑO SACUDIDO. MALTRATO INFANTIL.

ABSTRACT.
Diagnosing shaken baby syndrome is an extremely sensitive matter. The legal and judicial repercussions are extraordinarily interesting. Take the case of a 2 year old child with circumstances and injuries which warrant suspicion of child abuse and/or shaken baby syndrome. After a comprehensive police, coroner and social investigation, and hearing testimony from everyone involved, the conclusion was that the injuries were perfectly consistent with an accident, as the witnesses said. We can look at the anatomo-morphological characteristics of the retinal injuries for the differential diagnosis.

KEY WORDS: RETINAL HAEMORRHAGE. SHAKEN BABY. CHILD ABUSE.

CONTACTO: Félix Sánchez Ugena. Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Avenida de Antonio Masa Campos s/n. 06006 Badajoz. España. Email: felix.sanchez@justicia.es. 924238620

1. ANTECEDENTES.

Niño de 2 años llevado al Servicio de Urgencias de Pediatría tras haber sufrido una caída por unas escaleras en su domicilio.

En la exploración se apreció la existencia de un céfalohematoma de unos tres centímetros aproximadamente en la región frontal derecha. Con el diagnóstico de Traumatismo Craneal, los facultativos recomiendan permanecer en observación hospitalaria, si bien por insistencia de la cuidadora se le da el alta a su domicilio con las pertinentes instrucciones.

Transcurridas poco más de 24 horas del suceso, sobre las 08:30 horas de la mañana, parece ser que sufre una nueva caída por las mismas escaleras. La cuidadora manifiesta que en un primer momento el niño no acusaba nada, salvo enrojecimiento facial, pero que después de una hora comienza a notar un deterioro progresivo del nivel de consciencia.

Sobre las 11 horas avisa a los servicios de emergencia, que al llegar lo encuentran en parada cardiorrespiratoria. Tras 45 minutos de soporte vital avanzado y diez dosis de adrenalina, logran recuperar el ritmo cardiaco y lo trasladan al hospital.

Ingresa en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos. En estudios de imagen se objetiva la existencia de un hematoma subdural en el hemisferio izquierdo (fronto-parieto-temporal) con efecto masa y edema cerebral difuso (FIGURA 1). Por parte de Neurocirugía se descarta tratamiento quirúrgico. Se realiza electroencefalograma siendo isoeléctrico (*EEG plano*)

1. Médico Intensivista. Hospital Universitario de Badajoz. España.
2. Médicos Forenses. Instituto de Medicina Legal de Badajoz. España.
3. Médico de Urgencias. Hospital de Mérida. España.
4. Facultativo del Servicio de Histopatología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, Departamento de Madrid, España.
5. Médicos Forenses. Instituto de Medicina Legal de Badajoz. España.

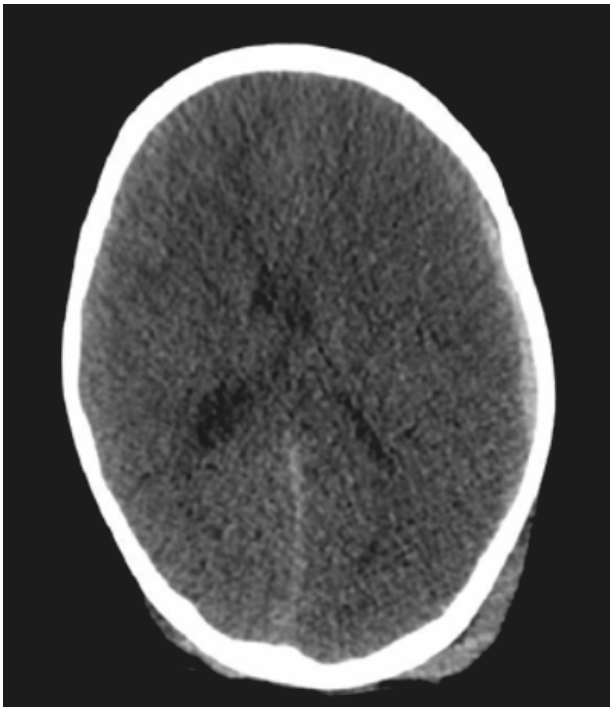


FIGURA 1. En la TC se puede observar hematoma subdural fronto-parieto-temporal izquierdo con desplazamiento de la línea media de 6 cm y datos de edema cerebral difuso.

En estudio oftalmológico se observan múltiples hemorragias intra-rretinianas y sub-retinianas en ambos ojos, que guardan cierto grado de simetría. En el ojo izquierdo, un acúmulo de líquido a nivel macular que produce una sobreelevación de la retina a nivel de las arcadas vasculares que rodean la mácula, compatible con un desprendimiento de retina.

Ante la situación de muerte encefálica acreditada clínicamente y por electroencefalograma de larga duración (prueba instrumental) sobre las 13 horas del siguiente día se objetiva la muerte encefálica. Se propone a la familia la posibilidad de donación de órganos, lo que rechazan.

Ante la causa y circunstancias de la muerte, se comunica al juzgado y se acuerda el traslado del cadáver al Instituto de Medicina Legal para su estudio.

2. EL CONTEXTO.

En el domicilio, además del menor fallecido, viven dos hermanos gemelos de tres años, el padre de éstos, de 23 y su pareja, de 21, que a su vez tiene un hijo de 18 meses. La mujer tiene antecedentes penales por lesiones y robo con fuerza. Todos los menores están al cuidado de ella. Ambos adultos son consumidores de cannabis.

La casa está ocupada de forma irregular desde unas dos semanas antes de los hechos. Las condiciones de habitabilidad de la vivienda son precarias. Los seis miembros duermen en colchones sobre el suelo, en una habitación situada en el primer piso. A este dormitorio se accede mediante una escalera de unos trece o quince escalones, con mucha pendiente, sin pasamanos ni barandilla de protección.

La pareja de padre, que es la cuidadora, declara que el niño se ha caído en dos ocasiones de forma accidental por la escalera, la primera vez estando todos en casa.

Los niños están correctamente vacunados y atendidos. La madre biológica no tiene queja alguna de la atención prestada por la pareja actual del padre hacia sus hijos. Las investigaciones policiales no recogen antecedentes de malos tratos por parte de la mujer ni por el padre.

3. AUTOPSIA.

Previamente al examen necrópsico, se realiza un mapa radiológico de todo el cuerpo, no observándose fracturas recientes ni antiguas.

3.1. EXAMEN EXTERNO.

Cadáver desnudo de un niño de 2 años de raza caucásica y sexo masculino. Normoconstituido. Mide 94 cm de talla en decúbito supino. Peso estimado unos 14 Kg.

Como signos de intervención médica reciente se aprecian punturas vasculares en las regiones yugular izquierda, fosa cubital izquierda, región inguinal izquierda y puntura intraósea en la pierna derecha.

Presenta las siguientes lesiones:

- Hematomas faciales múltiples.
- Excoriaciones redondeadas en ambas mejillas, dispuestas simétricamente (Figura 2).
- Hematoma redondeado en la cara lateral del brazo izquierdo, de 1 cm de diámetro.
- Hematomas intensos (bolsas sanguíneas) en la porción caudal de ambos glúteos (Figura 3).
- Hematoma reciente en la rodilla izquierda.
- Múltiples hematomas en ambas piernas en diferentes estadios evolutivos.

FIGURA 2. Detalle de la lesión de la mejilla derecha, tomada con lente de aumento una vez practicada la autopsia y lavado el cuerpo.

FIGURA 3. Bolsas sanguíneas en la parte inferior de ambos glúteos. Lesiones compatibles con haberse producido al golpearse con un escalón al caerse por las escaleras.

3.2. EXAMEN INTERNO.

En el levantamiento dorsal (Peel-off) no se observan lesiones. Hematoma en la cara lateral del brazo izquierdo, en correspondencia con el descrito en el examen externo. Pequeño hematoma en el tercio superior de la cara posterior del muslo izquierdo. Hematoma en las masas musculares de los gemelos en la pierna izquierda.

Hematoma en el colgajo anterior que interesa las regiones frontales, parietal derecha y vértex craneal. Extenso hematoma en la región occipital, tanto en el colgajo cutáneo como en el epicráneo. Hematoma subdural en la región fronto parieto occipital izquierda. Parénquima cerebral desestructurado. Peso del encéfalo 1.070 g; peso promedio de referencia 970 g. Hematoma en el músculo esternocleidomastoideo izquierdo, en relación con las punturas terapéuticas. Resto sin características de interés.

3.3. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.

Ante la duda surgida acerca del origen de las lesiones faciales (pellizcamiento, quemaduras de cigarrillos...) se solicita estudio histopatológico, al igual que el de los ojos.

En ambos ojos se identifican hemorragias en el nervio óptico con extensión al tejido adiposo circundante. Hemorragias retinianas focales, localizadas en la membrana limitante interna y capa de fibras nerviosas y en las proximidades de la salida del nervio óptico. Las hemorragias son recientes y están compuestas mayoritariamente por hematíes. No se identifican siderófagos. Los hallazgos son más intensos en el ojo izquierdo.

En las lesiones de ambas mejillas se observa una ulceración de la superficie epidérmica con necrosis de queratinocitos y pérdida de anejos (compatible con lesión de rascado). En la lesión de la mejilla izquierda, en el tejido celular subcutáneo subyacente, también se identifica un denso infiltrado inflamatorio con componente de eosinófilos. Los hallazgos son compatibles con lesiones excoriativas por picaduras de artrópodos.

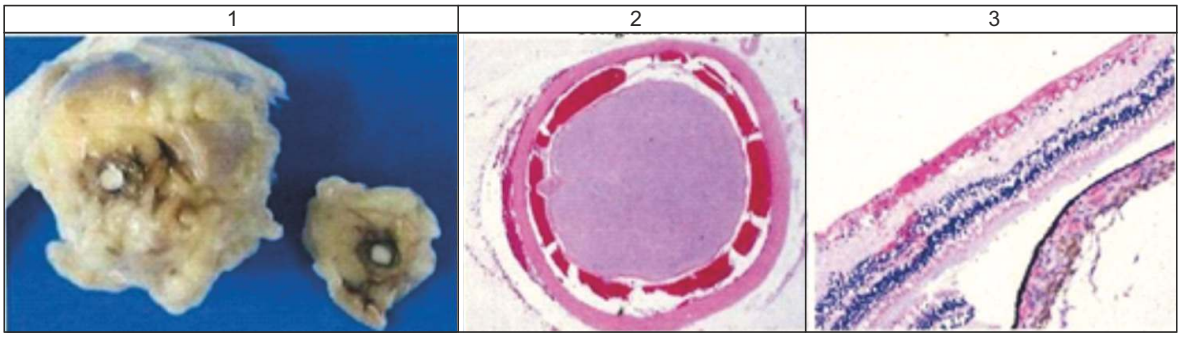


FIGURA 4. Hemorragia alrededor del nervio óptico derecho (1: macroscópica; 2: microscópica). Hemorragia en la retina derecha (3).

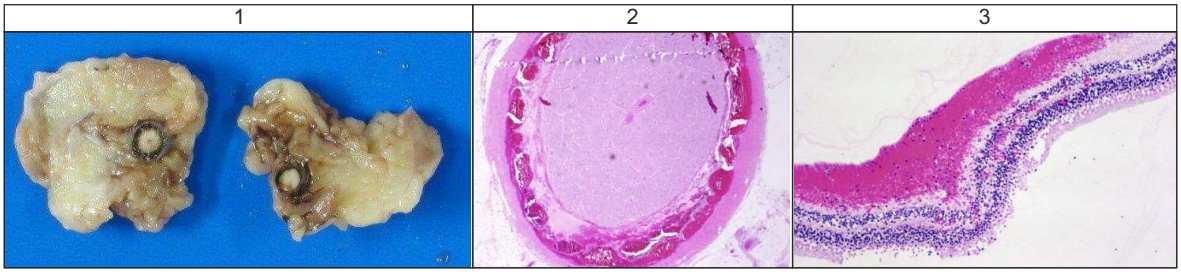


FIGURA 5. Hemorragia alrededor del nervio óptico izquierdo (1: macroscópica; 2: microscópica). Hemorragia en la retina izquierda (3).

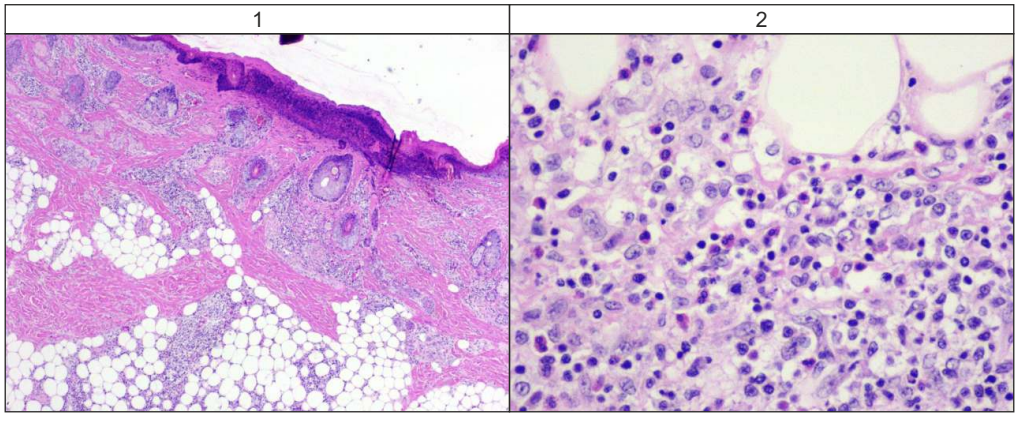


FIGURA 6. Lesión cutánea de la mejilla izquierda con ulceración de la epidermis, necrosis de queratinocitos (1) e infiltrado inflamatorio con componente de eosinófilos en el tejido celular subcutáneo (2).

4. DISCUSIÓN.

El Síndrome del niño sacudido/traumatismo craneoencefálico por abuso es una forma de maltrato físico infantil, generalmente en lactantes o en todo caso niños menores de tres años, caracterizado por la existencia de hemorragias retinianas, hematoma subdural o hemorragia subaracnoidea, en ausencia de un traumatismo externo o en el contexto de un traumatismo de baja intensidad que no permite explicar la severidad del cuadro lesivo [1].

Se trata de un diagnóstico desagradable y sumamente delicado. Las repercusiones jurídicas, policiales, sanitarias y sociales son extraordinarias. Por ello es necesario hacer un diagnóstico diferencial con lesiones de origen fortuito y las conclusiones del informe forense deben estar bien fundamentadas desde el punto de vista científico.

Tradicionalmente las hemorragias retinianas se han considerado patognomónicas de maltrato infantil. Actualmente estas hemorragias se describen en casos de episodios convulsivos, traumatismos craneoencefálicos severos [2], hipertensión intracraneal [3], y maniobras enérgicas de reanimación cardiopulmonar [4-6], siendo estas tres últimas circunstancias acontecidas en el caso que nos ocupa.

Conforme a la bibliografía examinada, según el origen primario de la hemorragia retiniana las características son diferentes, por lo que, valorando el contexto en el que ocurren, apoyan la existencia o no de maltrato [3, 7-8].

Cuando se producen en el contexto de maltrato o Síndrome de niño sacudido, su mecanismo de producción está en relación con un proceso de aceleración-desaceleración repetitiva lo que ocasiona un daño directo en los vasos retinianos [9]. En este caso las hemorragias se caracterizan por ser bilaterales, pre-retinianas, periféricas y con afectación de múltiples capas de la retina o el vítreo. Además, pueden aparecer pliegues retinianos perivasculares y retinosquisis, lo cual sería muy sugerente de maltrato en ausencia de trauma mayor acompañante.

En el caso que presentamos, las características de las hemorragias retinianas son claramente diferentes. Son bilaterales, con cierto grado de simetría, intrarretinianas y sub-retinianas, por tanto no pre-retinianas. Existen hemorragias focales, no en múltiples capas, en las capas más internas: limitante externa y fibras nerviosas. Tampoco existen pliegues retinianos ni retinoquisis. En el ojo derecho, hay líquido macular que produce una sobreelevación de la retina a nivel de las arcadas vasculares que rodean la mácula. Por tanto, conviene señalar que las características anatomo-morfológicas de las lesiones retinianas, consideradas en el contexto de los hechos, son un elemento esencial para el diagnóstico diferencial del síndrome.

En consecuencia, el origen de las lesiones es sugestivo de un cuadro de hipertensión intracraneal compatible con un mecanismo de producción multifactorial, en el que se superponen el traumatismo craneoencefálico, el hematoma subdural fronto-parieto-temporal, las maniobras de reanimación cardiopulmonar avanzada durante un periodo de tiempo prolongado (40 minutos) y la hipertensión intracraneal consiguiente, que finalmente desembocó en muerte encefálica.

La autopsia practicada corroboró los diagnósticos clínicos. Las hemorragias retinianas se consideran de reciente producción y por tanto encuadrables en un momento alrededor del suceso. Las lesiones faciales permiten atribuir su origen a picaduras de insecto y posterior rascado.

En el caso que nos ocupa, el examen del lugar de los hechos nos permitió observar las características de la vivienda y la peligrosidad de la escalera por la que el menor pudo haber caído, haciendo compatible las lesiones que presentaba, incluidas las de la región glútea, con la dinámica lesional referida por la cuidadora.

Tras una valoración conjunta del atestado policial, el examen del lugar de los hechos, los estudios forenses macro y microscópicos, los datos sociales del entorno del menor y las declaraciones de los testigos, se llegó a la conclusión con un razonable margen de verosimilitud, de que nos encontrábamos ante unas lesiones de carácter accidental, pudiendo descartar el maltrato como origen de las lesiones.

CONFLICTO DE INTERESES.

Los autores de este artículo declaran no tener ningún tipo de conflicto de intereses en relación con lo expuesto en el presente trabajo.

5. BIBLIOGRAFÍA.

1. M. Rufo Campos. El síndrome del niño sacudido. En Cuad Med Forense2006; 12(43-44):39-45

2. SCHLOFF S, MULLANEY PB, ARMSTRONG DC, SIMANTIRAKIS E, HUMPHREYS RP, MYSEROS JS, et al. Retinal findings in children with intracranial hemorrhage. Ophthalmology. 2002 Aug;109(8):1472-6.

3. BINENBAUM G, ROGERS DL, FORBES BJ, LEVIN AV, CLARK SA, CHRISTIAN CW, et al. Patterns of retinal hemorrhage associated with increased intracranial pressure in children. Pediatrics. 2013 Aug;132(2):e430-4.

4. ODOM A, CHRIST E, KERR N, BYRD K, COCHRAN J, BARR F, et al. Prevalence of retinal hemorrhages in pediatric patients after in-hospital cardiopulmonary resuscitation: a prospective study. Pediatrics. 1997 Jun;99(6):E3.

5. PHAM H, ENZENAUER RW, ELDER JE, LEVIN AV. Retinal hemorrhage after cardiopulmonary resuscitation with chest compressions. Am J Forensic Med Pathol. 2013 Jun;34(2):122-4.

6. BINENBAUM G, FORBES BJ, TOPJIAN AA, TWELVES C, CHRISTIAN CW. Patterns of retinal hemorrhage associated with cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation. J AAPOS. 2021 Dec;25(6):324.e1-324.e4.

7. MINNS RA, JONES PA, TANDON A, FLECK BW, MULVIHILL AO, MINNS FC. Raised intracranial pressure and retinal haemorrhages in childhood encephalopathies. Dev Med Child Neurol. 2017 Jun;59(6):597-604.

8. SHI A, KULKARNI A, FELDMAN KW, WEISS A, MCCOURT EA, SCHLOFF S, et al. Retinal Findings in Young Children With Increased Intracranial Pressure From Nontraumatic Causes. Pediatrics. 2019 Feb;143(2):e20181182.

9. LEVIN AV. Ophthalmology of shaken baby syndrome. Neurosurg Clin N Am. 2002 Apr;13(2):201-11, vi.

MUERTE POR PERITONITIS SECUNDARIA A ESTRANGULACIÓN DEL PENE.
DEATH FROM PERITONITIS DUE TO PENILE STRANGULATION.

GARCÍA PÉREZ JL.[1], LÓPEZ CALVO A.[2]

RESUMEN.
Presentamos el caso de un varón de 60 años que hallan fallecido en su domicilio tras varios días refiriendo que se encontraba mal. Consta el antecedente de consumo ocasional de cocaína y hachís. En la autopsia se observó que el pene estaba congestivo e hinchado, con aspecto necrótico y tenía colocado un anillo metálico en la base. Además, había abundante fibrina en la pelvis y adherencias entre el colon y la vejiga. En el estudio químico-toxicológico se encontró benzoilecgonina en orina. Para el estudio histopatológico se remitieron fragmentos de varios órganos y estructuras. Los hallazgos más relevantes fueron: necrosis del pene con denso infiltrado inflamatorio predominantemente neutrofílico y canales vasculares dilatados con trombosis. Se observaron trombos en vasos pulmonares de pequeño y mediano calibre. Había exudado fibrinopurulento en el peritoneo parietal (pared anterior del abdomen) y visceral (vejiga y colon). La peritonitis fue la causa de la muerte, provocando un shock séptico que puede resultar mortal si no se recibe tratamiento.

PALABRAS CLAVE: NECROSIS, ESTRANGULACIÓN PENEANA, PERITONITIS.

ABSTRACT.
We present the case of a 60-year-old man who died at home after several days referring that he was unwell. There was a history of occasional cocaine and hashish consumption. Autopsy results indicated that penis was engorged and swollen, with necrotic aspect and had a metallic ring placed at the base. In addition, there was abundant fibrin in pelvis and adhesions between colon and bladder. In the chemical-toxicological study, benzoylecgonine was found in urine. Fragments of several organs were submitted for histopathological study. The most relevant findings were: necrosis of the penis with dense inflammatory infiltrate predominantly neutrophilic and dilated vascular channels with thrombosis. In addition, thrombi were observed in small and medium caliber pulmonary vessels. There was fibrinopurulent exudate in parietal (anterior abdominal wall) and visceral (bladder and colon) peritoneum. Peritonitis was the cause of death, causing septic shock, which can be fatal without treatment.

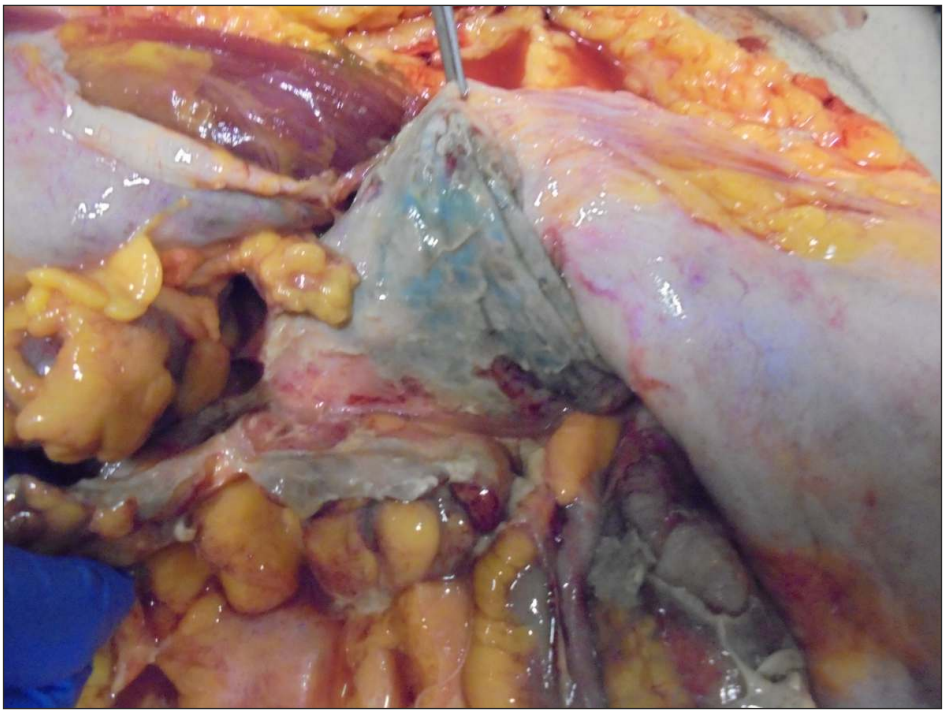
KEY WORDS: NECROSIS, PENILE STRANGULATION, PERITONITIS.

CONTACTO: Juan Luis García Pérez. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Calle José Echegaray 4, 28232, Las Rozas de Madrid. Correo electrónico: juanluis.garciaperez@justicia.es

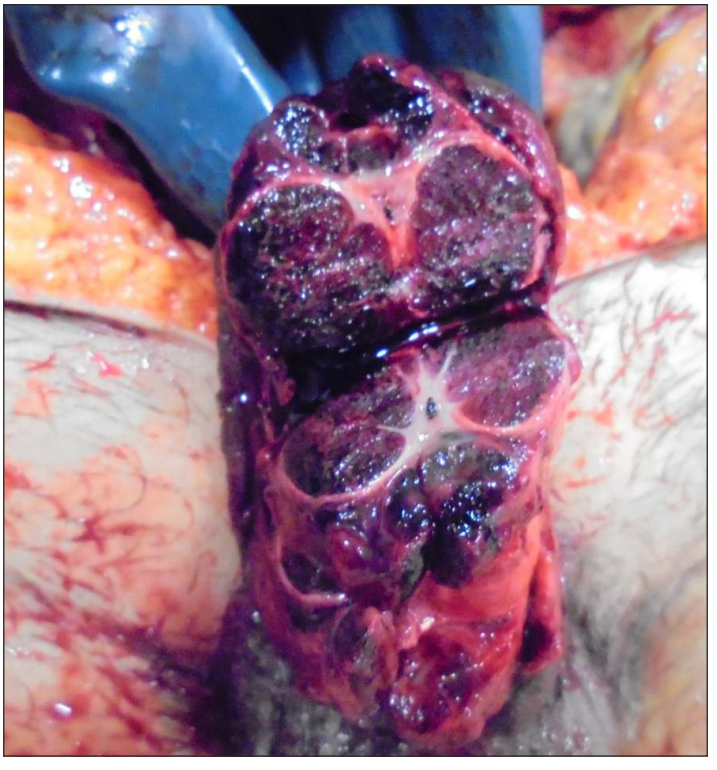
1. Servicio de Histopatología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Departamento de Madrid.
2 Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Málaga.

Fotografía 1. Pene necrótico con anillo metálico en la base.

Fotografía 2. Fibrina y adherencias en cavidad abdominal.

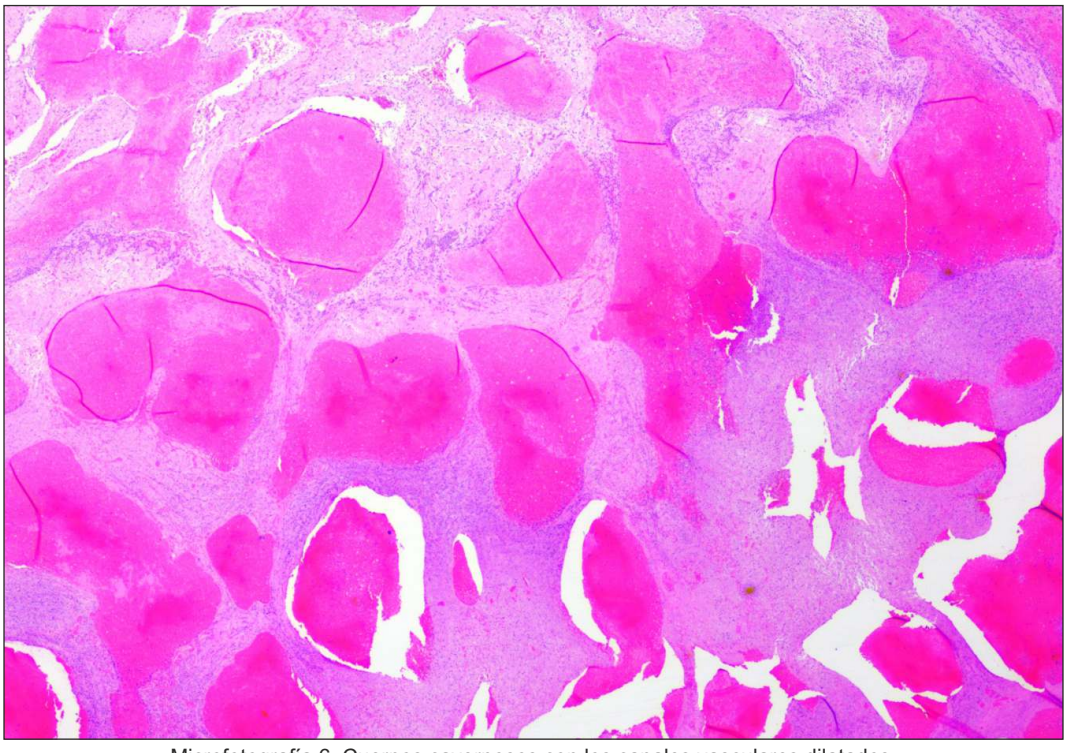


Fotografía 3. Fibrina y adherencias en cavidad abdominal.

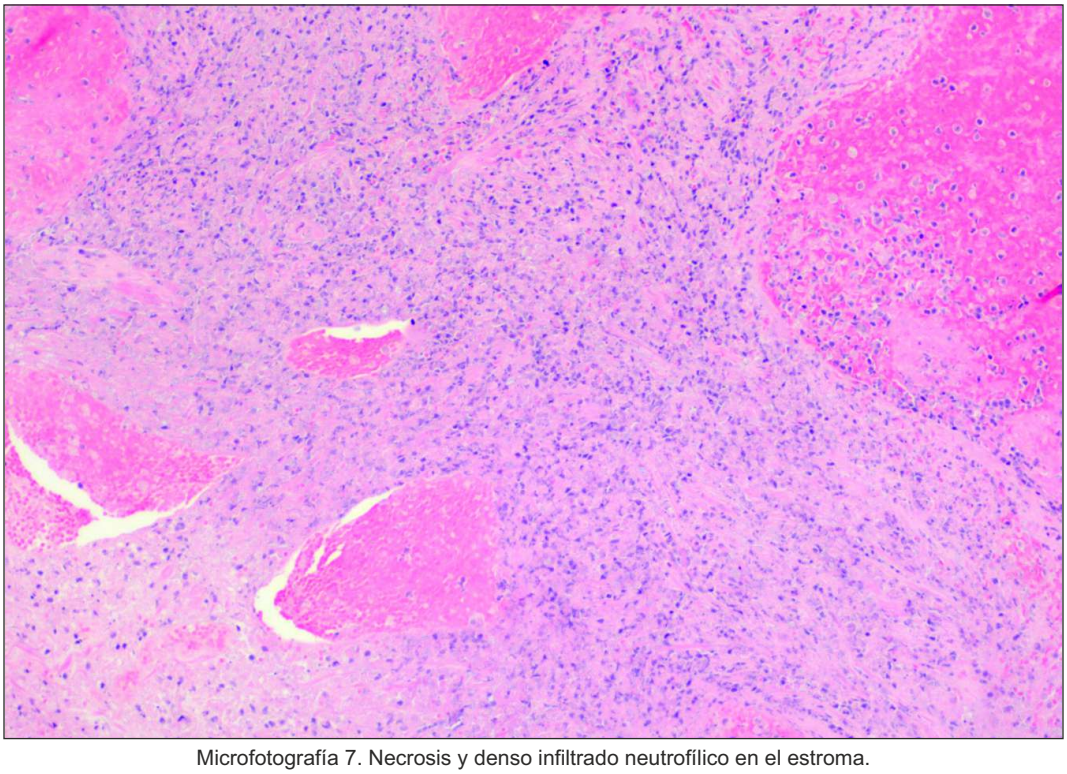


Fotografía 4. Corte perpendicular del pene que evidencia marcada congestión en los cuerpos cavernosos y esponjoso.

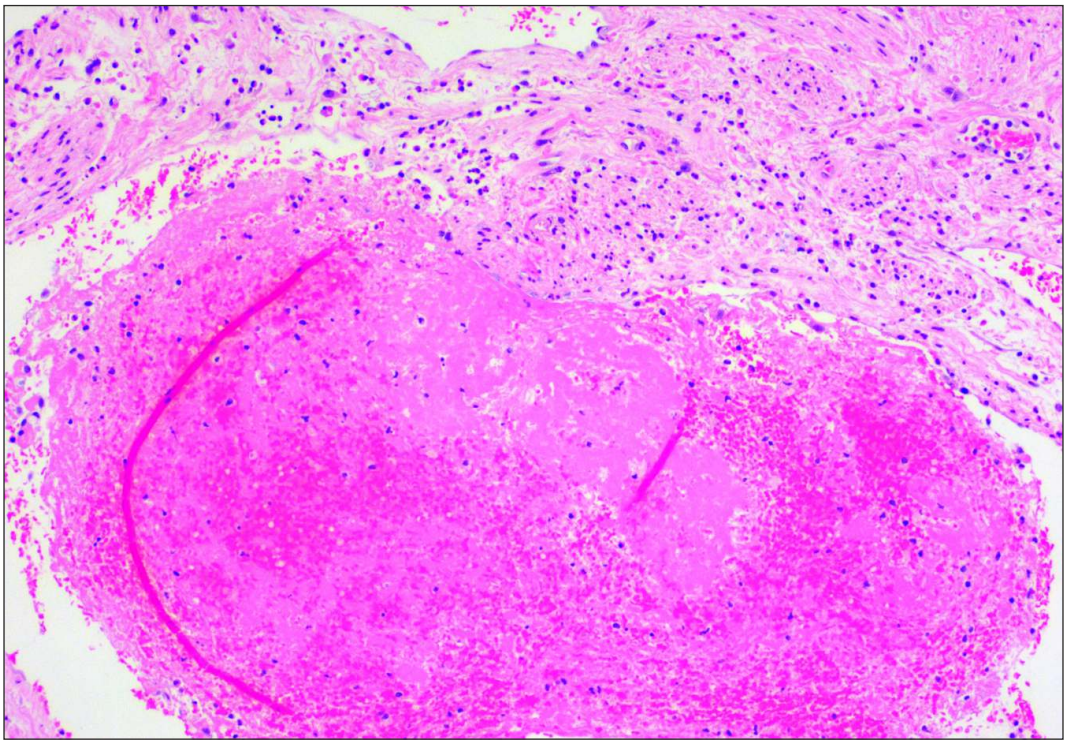
Fotografía 5. Fragmentos del pene remitidos para estudio histopatológico.



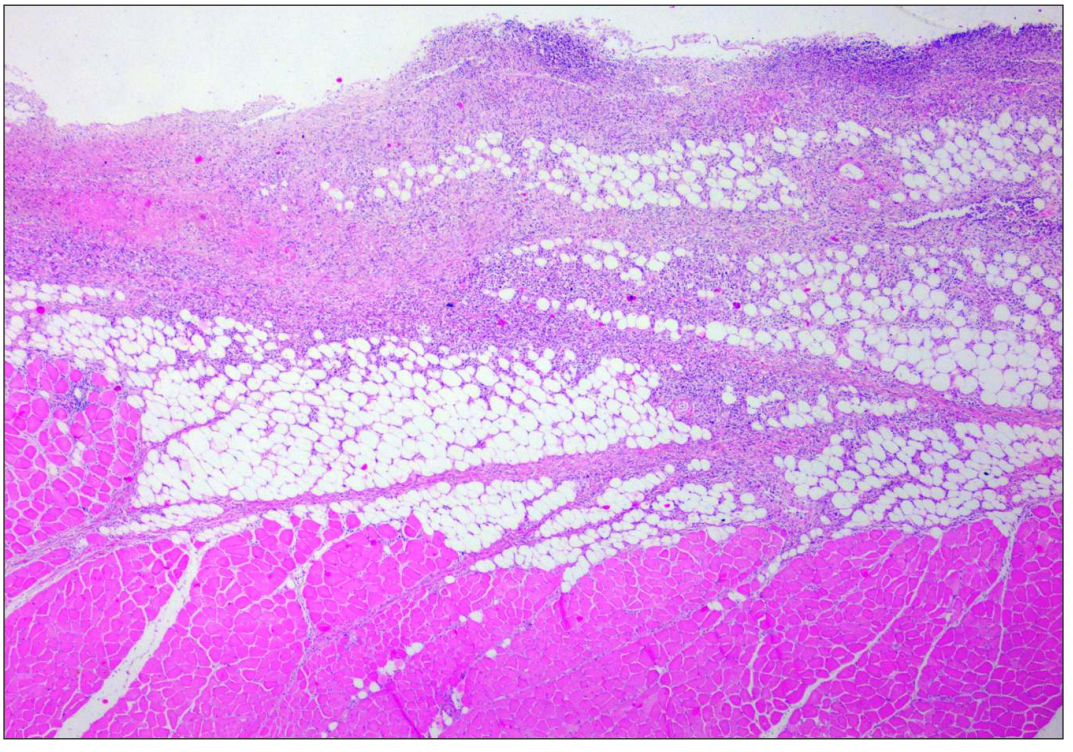
Microfotografía 6. Cuerpos cavernosos con los canales vasculares dilatados.



Microfotografía 7. Necrosis y denso infiltrado neutrofílico en el estroma.



Microfotografía 8. Trombosis en los canales vasculares del pene.



Microfotografía 9. Pared anterior del abdomen con infiltrado fibrinopurulento en la superficie serosa.

AGRADECIMIENTOS: A Sara Chaves Portela y Valentín Ramos Medina por su amable colaboración.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA.

1. ROMERO PÉREZ P, AMAT CECILIA M, MERENCIANO CORTINA FJ, POLO HERNÁNDEZ R, BALDISSERA ARADAS JV, FERRERO DORIA R. Estrangulación de pene por anillos. revisión de la serie española y aportación de 2 casos [Penile strangulation by rings. review of the spanish series and contribution of 2 cases.]. Arch Esp Urol. 2022;75(3):262-273.
2. ARSHAD AHMAD, JITENDRA KUMAR SAROJ, GANESH YADAV, ANKIT SACHAN. Penile strangulation due to metallic ring: a surgical emergency. Int Surg J. 2019;6(11): 4160-4162. https://dx.doi.org/10.18203/2349-2902.isj20195145
3. MORENTIN B, BIRITXINAGA B, CRESPO L. Penile strangulation: report of a fatal case. Am J Forensic Med Pathol. 2011;32(4):344-6. https://doi:10.1097/PAF.0b013e3181d8e3a5
4. PATEL NH, SCHULMAN A, BLOOM J, UPPALURI N, IORGA M, PARIKH S, PHILLIPS J, CHOUDHURY M. Penile and Scrotal Strangulation due to Metal Rings: Case Reports and a Review of the Literature. Case Rep Surg. 2018;2018:5216826. https://doi:10.1155/2018/5216826
5. JABBOUR Y, ABDOULAZIZI B, KARMOUNI T, EL KHADER K, KOUTANI A, IBEN ATTYA ANDALOUSSI A. Penile Gangrene and Necrosis Leading to Death Secondary to Strangulation by Condom Catheter. Case Rep Urol. 2018;2018:3702412. https://doi:10.1155/2018/3702412

CLAVES PARA DIAGNOSTICAR ADECUADAMENTE EL TROMBOEMBOLISMO PULMONAR (TEP) EN LA AUTOPSIA.
CLUES TO PROPERLY DIAGNOSE PULMONARY THROMBOEMBOLISM (PTE) AT AUTOPSY.

LUCENA J.[1], PRIETO-CUADRA D.[2]

RESUMEN.
El tromboembolismo pulmonar (TEP) es una causa frecuente de muerte súbita en personas adultas de mediana edad y ancianos, pero también en adolescentes y adultos jóvenes. Estos casos suelen ser objeto de autopsia, bien forense o clínica, por lo que es conveniente conocer las características morfológicas de los émbolos pulmonares que permitan su diagnóstico diferencial con los coágulos postmortem. Los hallazgos patológicos más significativos se encuentran en arterias pulmonares, tejido pulmonar y corazón, pero no debe concluirse la autopsia sin localizar el foco trombógeno, habitualmente situado en las venas profundas de las extremidades inferiores, que deben ser sistemáticamente evaluadas en la necropsia. Este artículo, realizado a solicitud del Director del Boletín Galego de Medicina Forense, tiene como objetivo exponer las características macroscópicas y microscópicas del TEP, de su origen habitualmente en los sistemas venosos profundos de las extremidades inferiores y de las lesiones pulmonares asociadas. Las características morfológicas permitirán realizar el diagnóstico diferencial con los coágulos postmortem y estimar la data de los trombos, aspecto de gran importancia desde el punto de vista médico-legal. Finalmente se presentan dos casos clínico-patológicos de fallecidos con TEP y coágulo postmortem para ilustrar mejor las diferencias entre ambos.

PALABRAS CLAVE: TROMBOEMBOLISMO PULMONAR; COÁGULO POSTMORTEM; AUTOPSIA FORENSE; AUTOPSIA CLÍNICA.

ABSTRACT.
Pulmonary thromboembolism (PTE) is a frequent cause of sudden death in middle-aged adults and elderly, but also in adolescents and young adults. These cases may be object of an autopsy, being forensic or clinical, and for that reason is necessary to know the morphologic characteristics of the pulmonary emboli which allow the differential diagnosis with the postmortem clots. Most significative pathologic findings are located in the pulmonary arteries, the lung tissue and the heart; however, the autopsy should not be finished without the localization of the thrombogenic source, usually located at the deep leg veins which should be systematically evaluated at the autopsy. The aim of this paper, made at the request by the Director of the Galician Bulletin of Forensic Medicine, is to present the gross and histological features of the PTE, its origin at the deep leg veins and the associated lesions of the lung. Morphologic features may allow the differential diagnosis with the postmortem clots and the dating of thrombus formation, which is an important medicolegal issue. Finally, two clinico-pathological cases of deceased with PE and postmortem clot are presented to better illustrate the differences between them.

KEY WORDS: PULMONARY EMBOLISM; POSTMORTEM CLOT; FORENSIC AUTOPSY; CLINICAL AUTOPSY.

CONTACTO: Joaquin Lucena Romero. Email: joaquin.lucena@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN.

El tromboembolismo pulmonar (TEP) consiste en el enclavamiento en las arterias pulmonares de un trombo desprendido (émbolo) desde alguna parte del territorio venoso o desde las cavidades derechas del corazón. El TEP y la trombosis venosa profunda (TVP) son manifestaciones de la misma entidad clínico-patológica, la enfermedad tromboembólica venosa (ETEV)[1]. Es una enfermedad que presenta una tasa de mortalidad menor al 8% en los casos diagnosticados y tratados, sin embargo, alcanza una mortalidad del 30% en los no diagnosticados[2].

El TEP es una causa frecuente de muerte súbita (MS) en personas adultas de mediana edad y ancianos, pero también en adolescentes y adultos jóvenes. Estos casos suelen ser objeto de autopsia, bien forense o clínica, por lo que es conveniente conocer las características morfológicas de los émbolos pulmonares que permitan su diagnóstico diferencial con los

1. Servicio de Patología Forense. Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Sevilla.
2. UGC provincial de Anatomía Patológica. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria. IBIMA. Málaga.

coágulos postmortem. La diferenciación entre ambos no suele ocasionar muchas dificultades en la autopsia macroscópica para un patólogo experimentado; no obstante, cuando el trombo se formó pocas horas antes de embolizar, o se trata de pacientes en tratamiento anticoagulante o fibrinolítico, las diferencias pueden ser más sutiles por lo que el examen histopatológico es definitivo en estos casos. El examen histopatológico también es de gran utilidad para estimar la data de los trombos, aspecto de gran importancia médico-legal como luego se comentará[3].

En los últimos 5 años (2018-2022), en el SPF de Sevilla se han realizado 5194 autopsias en cadáveres completos, 3066 (59%) de origen natural y de ellas 2153 (70%) de origen cardiovascular. En estos 5 años se han diagnosticado 136 MS por TEP (54% mujeres, predominio entre 66 y 80 años), representando el 4.4% de todas las muertes naturales y el 7.6% de las muertes naturales cardiovasculares, cifra que es superior a la descrita en Japón (1.5% de todas las MS)[4] y casi el doble de lo que publicamos en un estudio previo(1). Con respecto a las autopsias en población de 1-35 años, desde 2004 a 2021 (18 años) hemos tenido 339 MS de las que 267 (79%) eran de origen cardiovascular y dentro de ellas 32 (12%) fueron debidas a un TEP (59% varones, rango 2-35 años) [5]. La tasa de TEP en este grupo de edad es de 0.20/100000 habitantes/año, cifra inferior al 0.36/100000 habitantes y año descrito en un estudio previo realizado en Dinamarca[6].

La patogenia de la formación del trombo sigue basándose en la clásica triada de Virchow (1856)[7]: estasis vascular, daño endotelial y anomalías de la circulación sanguínea. Existen diversos factores genéticos, así como condiciones adquiridas, permanentes o temporales, que favorecen el desarrollo de un TEP. Entre los factores de riesgo adquiridos se encuentran la inmovilización prolongada, movilidad reducida, toma de anticonceptivos orales, obesidad, edad avanzada, tabaquismo, embarazo y puerperio, enfermedades psiquiátricas, fundamentalmente esquizofrenia y tratamiento con antipsicóticos, sobre todo Clozapina[1,8,9,10]. La predisposición genética del riesgo elevado de trombosis venosa se describe con el término trombofilia que está asociada con mutaciones genéticas en los factores que inhiben o regulan la cascada fisiológica de coagulación. Entre ellos, las mutaciones más frecuentes se han hallado en el factor V de Leiden, que determina una deficiencia en la activación de la proteína C, y en la protrombina G20210 y con menor frecuencia la antitrombina (I, II y III) y las proteínas C y S[11,12].

El objetivo de este artículo es exponer las características macroscópicas y microscópicas de los trombos pulmonares que permitan su diferenciación de los coágulos postmortem. Los hallazgos patológicos más significativos se encuentran en arterias pulmonares, tejido pulmonar y corazón, pero no debe concluirse la autopsia sin localizar el foco trombógeno, habitualmente situado en las venas profundas de las extremidades inferiores, que deben ser sistemáticamente evaluadas en la necropsia.

2. TÉCNICA DE LA AUTOPSIA.

En el examen externo, es importante determinar si existe trombosis venosa profunda, determinando la presencia de alguna extremidad inferior roja e hinchada, comprobando la circunferencia bilateral de la pantorrilla y el muslo[3].

En el examen interno, es interesante determinar si hay hallazgos relacionados con traumatismos, cirugía reciente, o neoplasias subyacentes conocidas o no, dado la potencial existencia de síndromes paraneoplásicos que se relacionan con alteraciones de la coagulación y son causas secundarias de TEP.

Ante la sospecha de TEP se debe proceder mediante técnica de disección de Gohn, con una extracción en bloque de los órganos torácicos incluyendo lengua y glotis. Para localizar el trombo, lo mejor es buscarlo in situ, por lo que se aconseja abrir la arteria pulmonar mediante abordaje posterior debajo de las uniones traqueo-bronquiales donde se localizará la cara posterior de la división en rama izquierda y derecha de la arteria pulmonar[13].

Tras la apertura de la arteria pulmonar si se visualiza algún tipo de estructura tubular intraluminal, es importante no movilizarlo ni traccionar del mismo ya que, en fresco, existe riesgo de disgregación de este. Por lo tanto, es importante seguir abriendo el flujo vascular arterial pulmonar de forma anterógrada, hasta las ramas lobares principales. Si en fresco no existen datos suficientes para determinar la naturaleza del TEP, es aconsejable practicar una fijación parcial de las estructuras en formol, y proseguir con la disección de forma diferida y secuencial (en 24 horas posterior), a fin de favorecer la fijación del material intravascular, permitiendo conservar la integridad del mismo en sucesivos cortes del parénquima pulmonar siguiendo planos vasculares.

Es importante comprobar la presencia de TEP tanto en segmentos proximales (en bifurcaciones, émbolos en silla de montar) como en la vascular distal (ramas lobares y segmentarias) porque no es infrecuente que sea una enfermedad de múltiples eventos. Finalmente, se debe observar el parénquima pulmonar ya que la presencia de edema pulmonar puede indicar insuficiencia cardíaca congestiva preexistente, lo que supone una causa contribuyente de TEP[14].

3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS TROMBOS.

El tromboémbolo causante del TEP se localiza en las arterias pulmonares. Los trombos de gran tamaño suelen quedar ubicados en el tronco arterial principal llegando a obstruir en ocasiones ambas arterias pulmonares determinando el denominado “trombo en silla de montar” (Fig. 1). Los de menor tamaño obstruyen ramas principales de dicha arteria y los más pequeños, las ramas intrapulmonares.

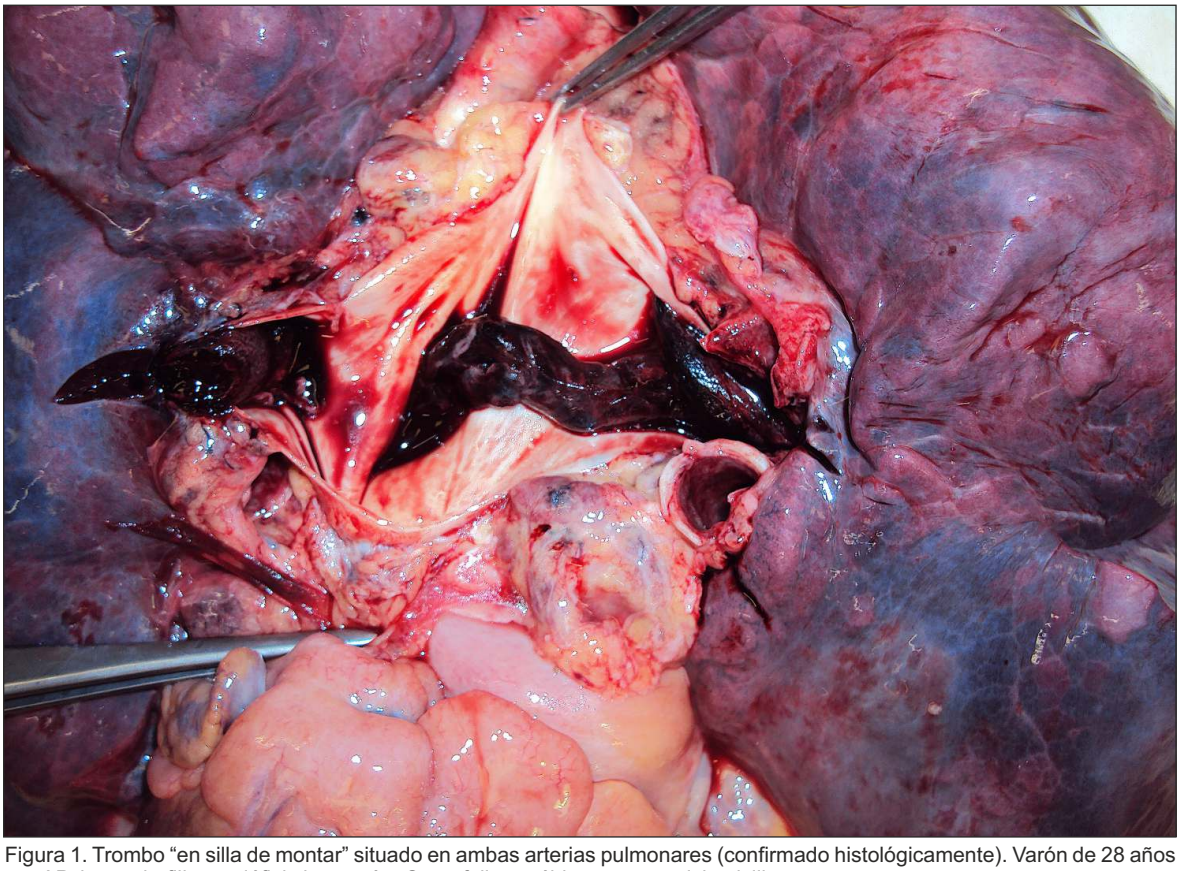


Figura 1. Trombo “en silla de montar” situado en ambas arterias pulmonares (confirmado histológicamente). Varón de 28 años con AP de trombofilia por déficit de proteína S que fallece súbitamente en el domicilio.

Los trombos se diferencian morfológicamente en dos grandes tipos en función de su grado de evolución cronológica: trombos grises (Fig. 2) y trombos rojos (Figs. 1 y 3). Los trombos grises son compactos, de coloración blanquecina y laminados a la sección. Los trombos rojos son igualmente compactos, pero de color rojo oscuro y a la sección presentan capas blancas y rojas alternadas (líneas de Zahn) (Figura 3). Ambos trombos ocluyen la luz arterial, aparecen como torcidos sobre sí mismos (Figs. 3 y 4) y no se amoldan perfectamente a la luz arterial, pudiendo apreciarse en su contorno la forma del molde venoso de origen o incluso la impronta de las válvulas cardíacas del corazón derecho a través del cual han progresado hasta las arterias pulmonares. Las líneas de Zahn en el estudio microscópico corresponden con capas alternantes de agregados de eritrocitos y otras conformadas fundamentalmente por plaquetas y fibrina en forma de láminas. Dichas capas o líneas reflejan el mecanismo de producción de los trombos en situaciones de estasis venoso a nivel del foco trombógeno por depósito progresivo de elementos sanguíneos sobre un trombo originalmente adherido a un defecto endotelial venoso. Cuando en el trombo pueden identificarse microscópicamente abundantes neutrófilos, se le denomina trombo séptico y sugiere la existencia de un proceso infeccioso asociado.

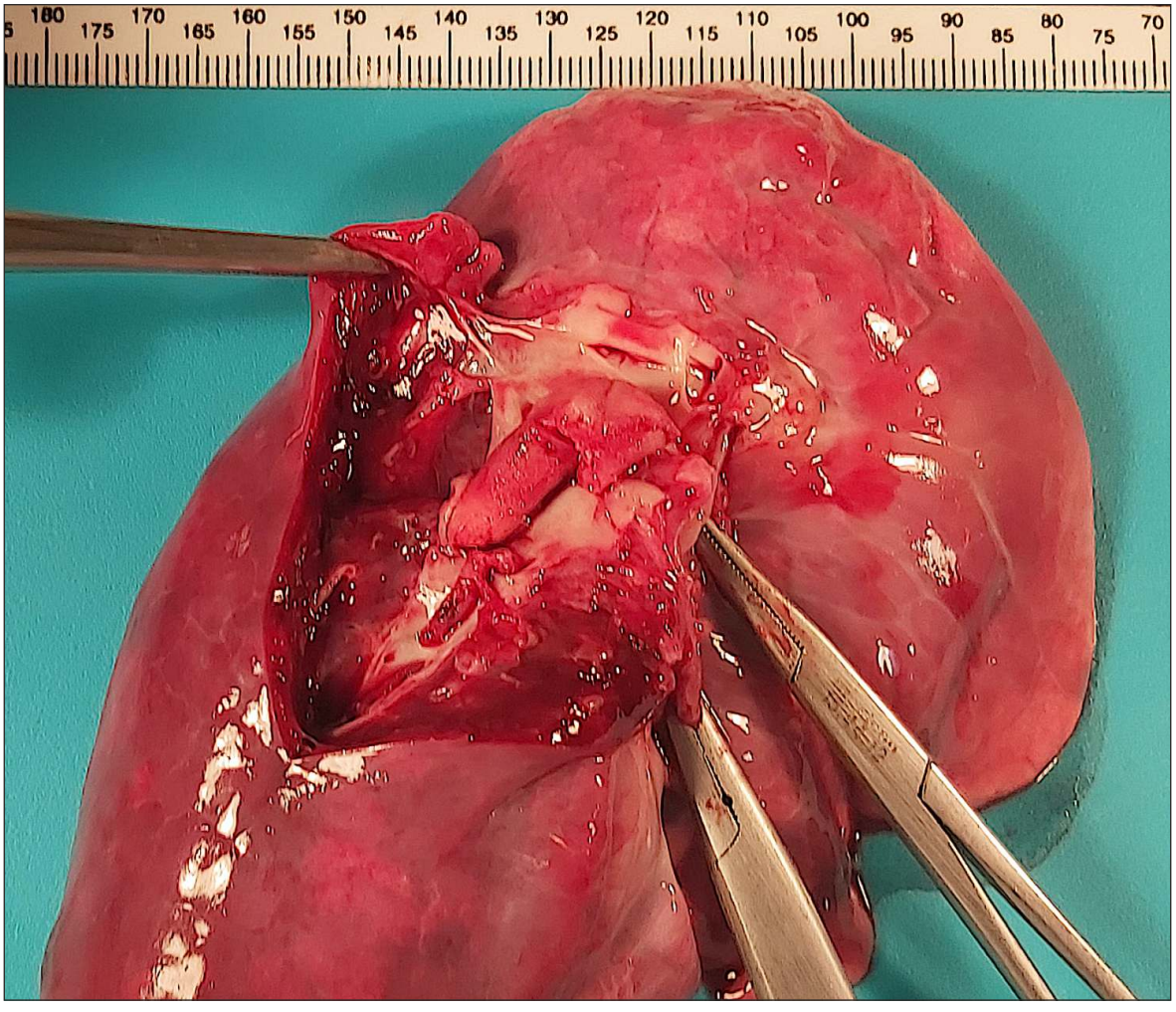


Figura 2. Trombo gris acabalgado en las dos arterias pulmonares principales (confirmado histológicamente). Niño de 2 años con AP de s. nefrótico córtico-dependiente que fallece súbitamente.

Se ha demostrado que los émbolos presentan preferencia por localizaciones múltiples, pulmón derecho y lóbulos inferiores. Tras circular como émbolos, impactan cuando se produce incompetencia continente-contenido en el territorio vascular tras lo cual se adhieren al endotelio vascular dañado y sufren transformaciones histológicas produciéndose el fenómeno conocido como trombo-émbolo.

En la experiencia práctica de los autores, los trombo-émbolos expanden centrífugamente los diámetros de las arterias pulmonares desde el hilio hasta la periferia de forma que, tras la fijación, y sobre todo en los masivos o de grandes ramas, se ve muy bien como han dilatado "contra-natura" el calibre habitual del vaso (Fig. 5) dando la imagen clásica de "pasta de dientes saliendo del tubo" (Fig. 6).

Habitualmente, los émbolos pulmonares se observan fácilmente durante la autopsia y el diagnóstico diferencial con los coágulos postmortem no ofrece problemas. Éste último es blando, liso, brillante y no producen aumento en el diámetro de la luz, sino que reproducen exactamente la forma del vaso en que se encuentran y cuando se extraen forman un molde que dibuja perfectamente toda la vasculatura hasta las ramas distales. La sedimentación, después de la muerte suele dividirlo en una parte de coágulo plasmático tipo “grasa de pollo”. En otras ocasiones tienen una superficie brillante y un aspecto gelatinoso en “jalea de arándanos”[3] (Figs. 3, 7 y 8).

Desde el punto de vista microscópico, es importante distinguir entre:

- Trombo–émbolo reciente, donde se visualizan las líneas de Zahn, que puede ser sutil, delgada y periférica.

- Trombo–émbolo organizado, donde se aprecia infiltración celular inflamatoria con macrófagos y la presencia de neovasos, que muestran distribución centrípeta (comienzan en los bordes y progresa hacia el interior).

- Coágulo sanguíneo postmortem, tiene apariencia macroscópica de “grasa de pollo” (coloración amarillenta) o “jalea de arándanos/gelatina de grosella” (coloración rojo oscuro brillante). Y microscópicamente, muestra una disposición aleatoria de suero coagulado y glóbulos rojos.

Figura 3. Aspecto macroscópico de un trombo pulmonar (izquierda) y un coágulo postmortem (derecha) (confirmados histológicamente).

Figura 4. Aspecto macroscópico de un trombo pulmonar tras fijación prolongada (confirmado histológicamente). Mujer de 59 años con inmovilización de la extremidad inferior derecha por fractura de tobillo en accidente laboral que fallece súbitamente en su domicilio a los 34 días.

Figura 5. Aspecto macroscópico de un trombo en una rama de la arteria pulmonar tras fijación prolongada con lupa estereoscópica (confirmado histológicamente). Mujer de 57 años que viajaba en una furgoneta desde Bulgaria a Portugal y fallece súbitamente cuando se detuvieron a repostar carburante en una gasolinera de Sevilla.

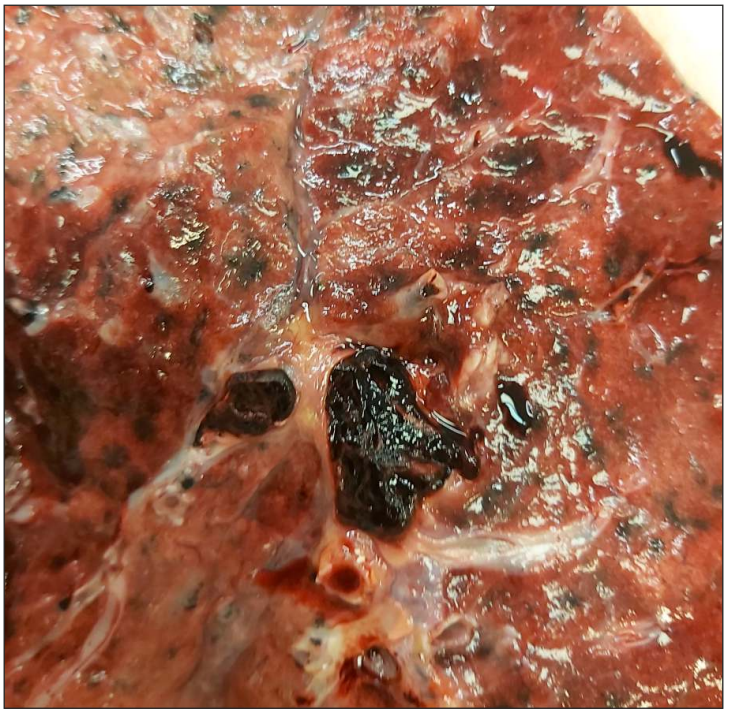


Figura 6. Trombo aflorando en la luz arterial “como pasta de dientes saliendo del tubo” (confirmado histológicamente). Varón de 55 años, fumador importante, con antecedentes de inmovilización por fractura de peroné tres semanas antes que fallece súbitamente en el domicilio. El pulmón presenta una antracosis severa con un patrón de enfisema.

Figura 7. Imagen de coágulos postmortem con el típico aspecto “en grasa de pollo”. El coágulo del centro dibuja perfectamente las ramas vasculares. Mujer de 56 años que es hallada fallecida en el domicilio.

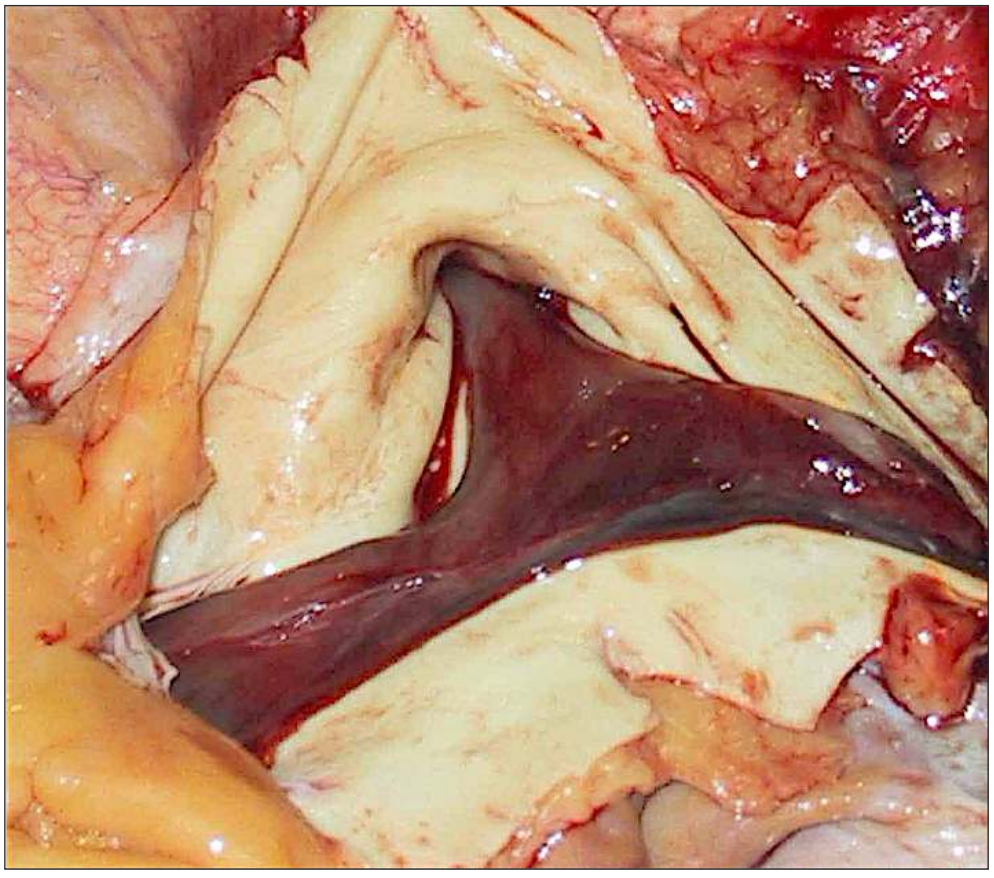


Figura 8. Coágulo postmortem acabalgado en las arterias pulmonares con la superficie brillante y el aspecto gelatinoso "en jalea de arándanos". Varón de 71 años en tratamiento con anticoagulantes orales (warfarina sódica) que es hallado muerto en el domicilio.

En la Tabla 1 se describen las diferencias morfológicas entre los trombos vitales agudos, responsables de TEP, y los coágulos postmortem.

	Trombo Vital	Coágulo Postmortem
Color	Rojo oscuro	Bifásico rojo/amarillo (grasa de pollo, jalea de arándanos
Consistencia	Firme	Blanda y gelatinoso
Superficie	Rugosa. Deslustrada	Lisa, húmeda, brillante
Forma	Enroscado. Molde de venas en las piernas	Molde de la arteria pulmonar. Ramificado
Estriaciones lineales	Presentes	Ausentes
Distensión vascular	Presente	Ausente. Adherido a la pared pero se elimina fácilmente
Adherencia a la pared vascular	Presente	Ausente
Hemorragia perivascular	Presente	Ausente
Líneas de Zahn	Si	No

Tabla 1. Características macroscópicas de los trombos vitales y los coágulos postmortem. Modificada de Groshong et al (2008)[15].

4. ESTIMACIÓN DE LA DATA DE LOS TROMBOS.

Los trombos presentan una evolución cronológica en diferentes fases según su edad histológica lo que permite realizar la datación de los mismos en tres fases cronológicas identificables. Diversos autores recomiendan centrar el estudio de datación de los trombos en su foco de origen de TVP en lugar de los trombos pulmonares, dada la evolución más imprevisible de esta última ubicación[9,16].

Fase	Período	Histología
I	1-7 días	• La sangre contacta con un endotelio erosionado y se forma un parche de plaquetas y fibrina que crece por capas alternantes de eritrocitos y plaquetas con fibrina (líneas de Zahn). • No hay reacción entre trombo y endotelio. • Eritrocitos preservados y aglomerados. • Picnosis inicial de células sanguíneas blancas. • Monocitos con núcleos alargados. • Depósitos de calcio (tinción de Von Kossa). • Al principio, el trombo se une firmemente a una pequeña parte de la pared del vaso y no se puede liberar fácilmente. Por el contrario, un coágulo mantiene la proporción habitual de elementos formes de la sangre y no se une al endotelio por lo que se libera fácilmente de él.
II	2-8 semanas	• Cambios proliferativos de endotelio y capa media con penetración de fibroblastos. • Predominan macrófagos cargados de hemosiderina, eritrocitos fantasmas y transformación fibrinosa. • Las tiras de fibrina se unen atrapando células blancas. • La superficie libre del trombo está recubierta de endotelio. • Restos nucleares dispersos de células blancas.
III	Más de 2 meses	• Hialinización completa del trombo con cavidades centrales sinuosas y más adelante recanalización de los grandes vasos con elementos formes libres en su luz. • Pocas células blancas en el interior de un tejido conectivo compacto rico en fibras y pobre en celularidad.

Tabla 2. Fases de la datación histológica de los trombos y tromboémbolos. Tomada de Fineschi et al (2009)[17].

5. HALLAZGOS EN EL PULMÓN.

En el tejido pulmonar, el examen macroscópico a menudo no revela hallazgos significativos, aparte de la presencia de los trombos que afloran de las luces arteriales como “pasta de dientes saliendo del tubo” (Fig. 6). En ocasiones se observan manguitos hemorrágicos periarteriales con necrosis del tejido pulmonar (Fig. 9). El estudio microscópico sólo revela infiltrados de hematíes intraalveolares y parenquimatosos y un estado de congestión vascular.

El infarto pulmonar se observa en un porcentaje que oscila entre el 20-30% de los TEP (Figs. 10 y 11). Para que haya infarto pulmonar se deben cumplir uno de estos criterios: pérdida de la doble irrigación pulmonar, provista por las arterias pulmonares y las bronquiales (que derivan de la aorta) o la coexistencia de enfermedad cardiaca o pulmonar. En aquellos pacientes que presentan enfermedad cardiaca, especialmente insuficiencia cardiaca congestiva, la hemorragia pulmonar progresa a infarto con necrosis del tejido pulmonar, cuya cuantía estaría directamente relacionada con el tamaño del trombo-émbolo y del vaso ocluido. Sin embargo, en los pacientes sin enfermedad cardiaca y con una presión venosa pulmonar normal, se desarrollaría un infarto incompleto, que corresponde a hemorragia intraalveolar sin evidencia de necrosis[18].

Las características anatomo-patológicas del infarto pulmonar se describen en la Tabla 3.

Figura 9. Manguitos hemorrágicos periarteriales con necrosis pulmonar. Niño de 8 años con AP de síndrome nefrótico córtico-dependiente que fallece durante ingreso hospitalario. El análisis de trombofilias hereditarias puso de manifiesto una mutación heterozigota en el gen de la protrombina

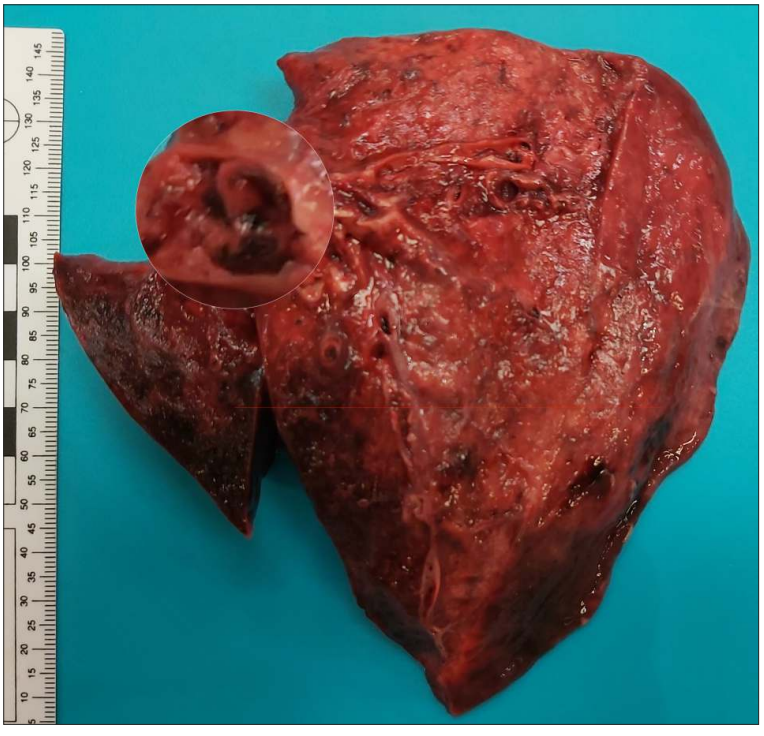


Figura 10. Infarto pulmonar en la base del pulmón derecho con la característica forma triangular de vértice inferior (confirmado histológicamente). La arteria pulmonar principal derecha está totalmente ocluida por un trombo (círculo magnificado). Varón de 88 años que fallece súbitamente.

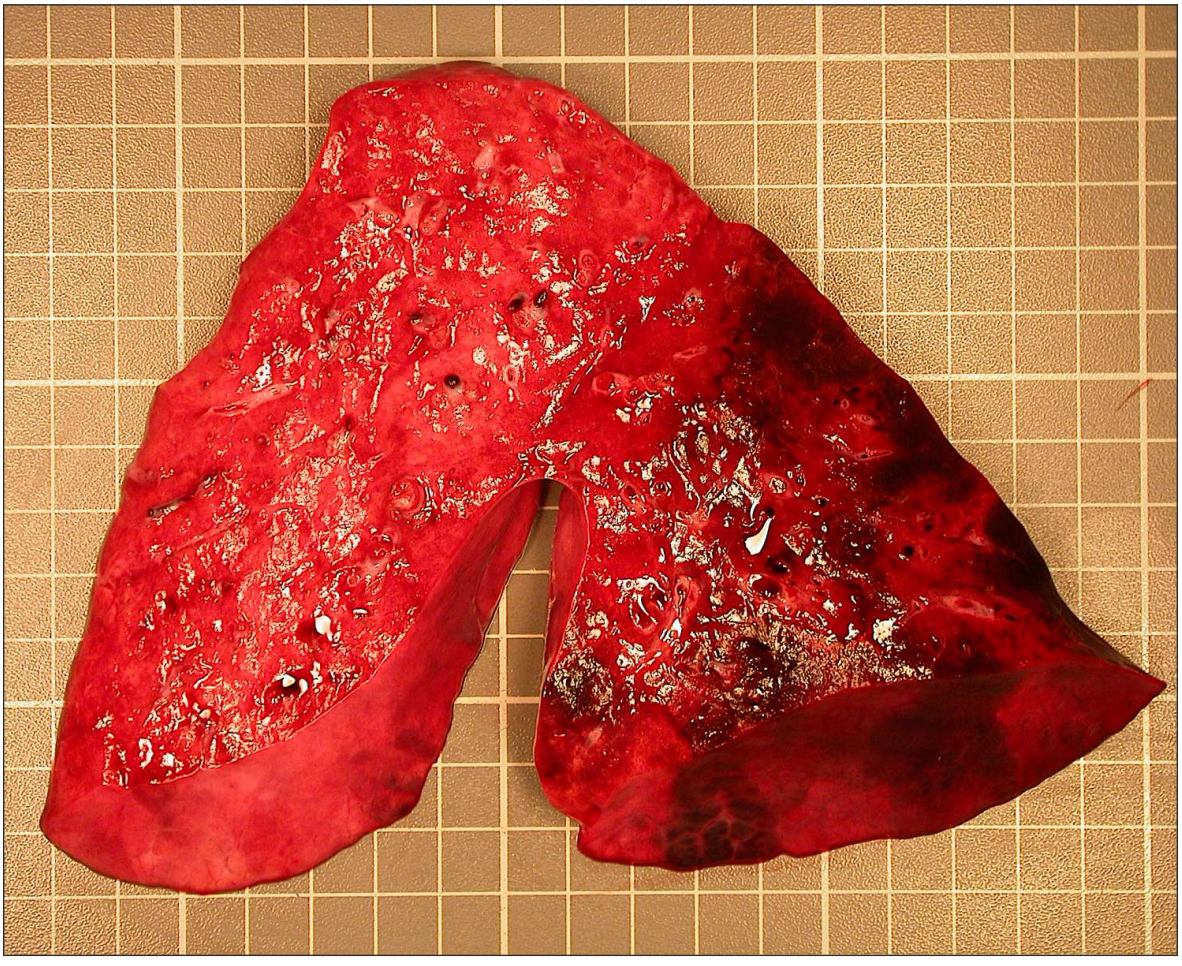


Figura 11. Infarto hemorrágico que ocupa todo el lóbulo inferior del pulmón izquierdo (confirmado histológicamente). Niño de 8 años con AP de síndrome nefrótico córtico-dependiente que fallece durante ingreso hospitalario. El análisis de trombofilias hereditarias puso de manifiesto una mutación heterozigota en el gen de la protrombina 20210A.

Características Macroscópicas	Características Microscópicas
• Las áreas de infarto pulmonar tienen una morfología en cuña a la sección del pulmón, con su vértice orientado al hilio pulmonar. • En su fase inicial, presentan un aspecto hemorrágico, de color azul-rojizo y superficie sobreelevada y puede asociar exudado fibrinoso pleural. • En la segunda fase, el color del tejido infartado se torna pardo por la lisis de la hemosiderina. • En la tercera fase, se produce una fibrosis por sustitución del tejido necrosado por tejido conectivo, dando una coloración blanco-grisácea que progresa desde la periferia al centro del infarto. • En su fase final, todo el tejido infartado es sustituido por tejido fibroso que se retrae y forma una cicatriz.	• En las fases iniciales del infarto pulmonar, sólo se aprecia hemorragia, edema alveolar y congestión arterial, sin evidencias macroscópicas de necrosis. En la fase de infarto establecido, estos hallazgos se asocian con reacción inflamatoria celular y desaparición de núcleos en los septos alveolares (necrosis coagulativa del parénquima pulmonar en un área de hemorragia y edema).

Tabla 3. Anatomía patológica del infarto pulmonar. Tomada de Garamendi et al (2015) [9].

6. BÚSQUEDA DEL ORIGEN DEL TROMBO EN EL SISTEMA VENOSO.

Ante un TEP siempre hay que buscar el origen del trombo que suele localizarse en un 90% de los casos en el sistema venoso profundo de los miembros inferiores, fundamentalmente en las venas musculares de las pantorrillas (Figs. 12 y 13). No obstante, hay que tener en cuenta que el origen del trombo no se suele encontrar en aproximadamente el 20% de los casos[19]. Previamente, hay que observar si en las extremidades inferiores existen alteraciones de la coloración, venas varicosas, tumefacción o asimetría en el grosor de las piernas (medir el perímetro a 20 cm por debajo de la tuberosidad tibial, 3 cm de diferencia tienen valor diagnóstico; también por encima de las rodillas))[3].

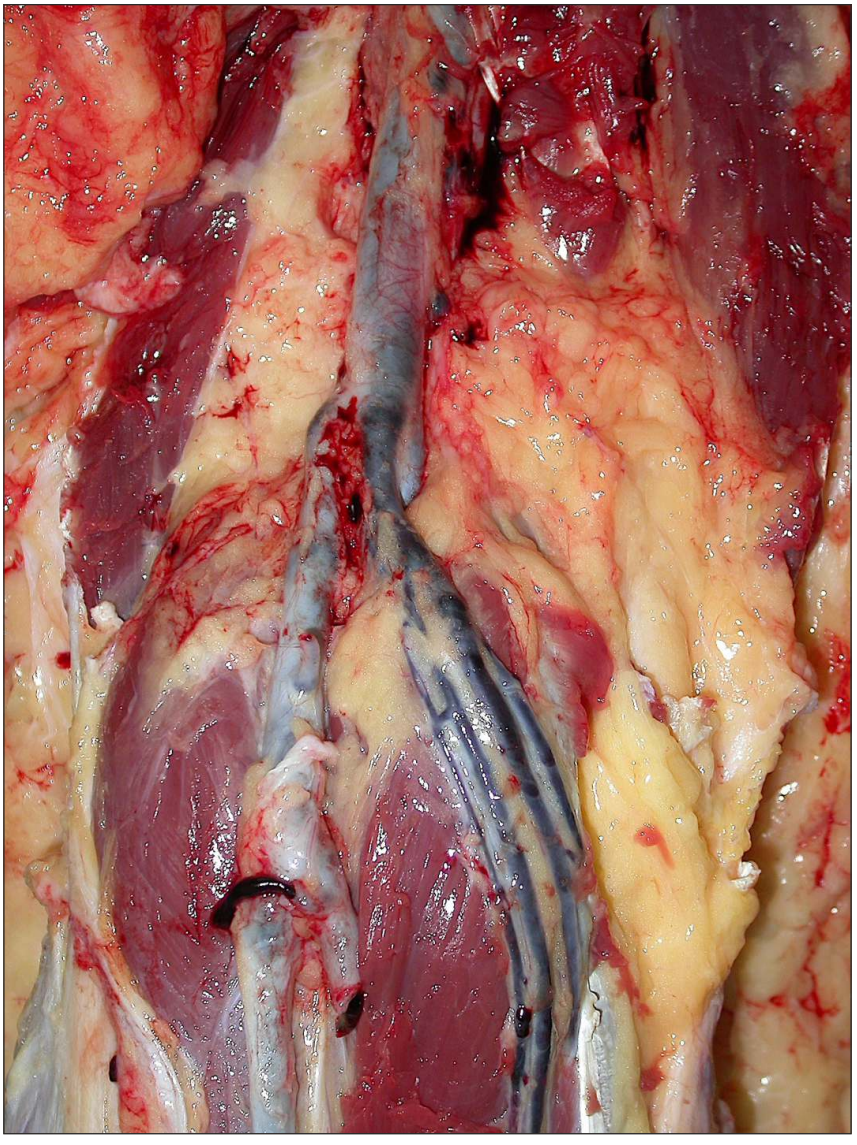


Figura 12. Trombosis masiva en el territorio de las venas poplíteas y tibiales posteriores (confirmada histológicamente). Mujer de 39 años, con AP de trastorno ansioso-depresivo y clínica de disnea visitada en numerosas ocasiones por diferentes médicos. Fallece súbitamente en el domicilio.

Figura 13. Trombosis en el territorio de las venas poplíteas (confirmada histológicamente). Se observa la arteria en el centro y las dos venas a los lados. El trombo en la vena situada en el lado izquierdo de la figura ha sufrido un proceso de recanalización. Varón de 88 años que fallece súbitamente.

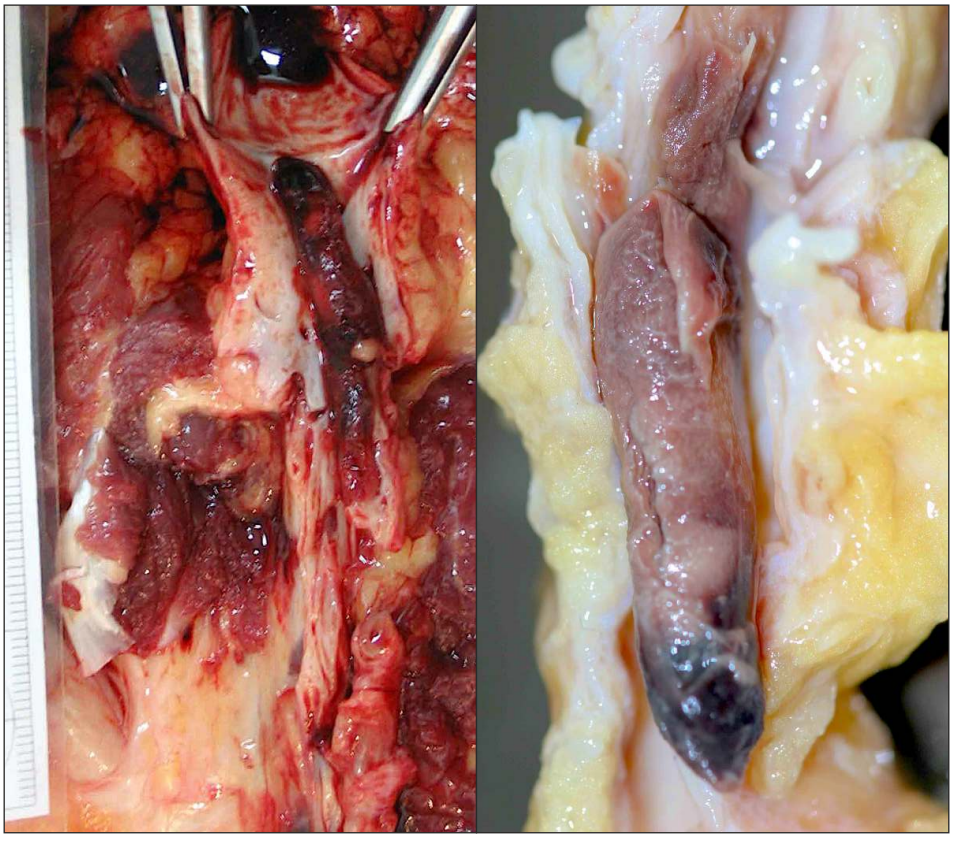


Figura 14. Trombosis en el territorio de la vena tibial posterior (confirmada histológicamente). A) Trombo en fresco; B) Trombo tras fijación prolongada. La vena se ha abierto longitudinalmente para mostrar el trombo alargado con punta “en cabeza de serpiente”. Varón de 61 años diagnosticado de rotura fibrilar en el gemelo de la pierna derecha que fallece súbitamente dos meses más tarde.

En un 10% de los casos el origen del trombo puede estar en cualquier punto del sistema venoso fuera de las extremidades inferiores, incluidos los senos venosos de la duramadre o en el corazón derecho (Fig. 15).

Figura 15. Trombo adherido a la trabécula del ventrículo derecho que produjo TEP masivo en un niño de 8 años con AP de síndrome nefrótico córtico-dependiente (confirmado histológicamente).

7. PRESENTACIÓN DE DOS CASOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS.

7.1. CASO 1.

Paciente varón de 66 años que acude a un s. de urgencias por sintomatología de tos no productiva y empeoramiento de disnea de un mes de evolución sin dolor torácico. A la exploración presenta signos de insuficiencia venosa y en analítica troponina de 0.148 y pro-péptido natriurético cerebral de 1254. Se procede al de urgencias con aumento de dosis de Furosemida. Dos días después sufrió síncope al despertar, con recuperación espontánea, acompañado de gran sensación de enfermedad, disnea y sudación profusa. Durante el traslado al hospital, sufre parada cardio-respiratoria con asistolia sin recuperación de pulso ni respiración a pesar de maniobras de RCP avanzada.

Fig. 16 (Panel A):

Visualización en fresco del coágulo perimortem en forma de cola que se extendía desde cavidad ventricular derecha, a través de válvula sigmoidea pulmonar, tronco pulmonar común y arteria pulmonar derecha. Contactando con el trombo se aprecia émbolo impactado en rama segmentaria inferior de la arteria pulmonar izquierda. Se observa como el coágulo postmortem es negro, brillante y no adherido a endotelio vascular, mientras que el trombo émbolo es parduzco, mate, rígido y adherido (amoldado) a la luz vascular arterial.

Panel B:

Visualización macroscópica de las características diferenciales entre el coágulo peri-postmortem en forma de cola y el trombo émbolo tras fijación en formol. Se observa el acabalgamiento e impactación vascular que produce en ramas vasculares segmentarias de arteria pulmonar lobar inferior izquierda. Microscópicamente, muestra signos vitales (líneas de Zahn), así como signos de revascularización y reendotelización, propios de fase II.

Panel C:

Visualización macroscópica de un gran trombo émbolo masivo, en cabalgadura, impactado en hilio vascular de arteria pulmonar izquierda, visible solo parcialmente en momento previo a la disección pulmonar (asterisco). Tras la apertura y corte pulmonar según flujo vascular se puede apreciar cómo se extiende a través de todas las ramificaciones de las tres arterias lobares derechas, dilatando y ocupando en forma de molde la totalidad de las luces vasculares. Microscópicamente, muestra signos vitales (Líneas de Zahn), pero sin signos de reacción entre endotelio y material tromboembólico, propios de fase I. El tamaño y localización de estos tromboémbolos sugieren que, cronológicamente, el primer émbolo fue el de la arteria pulmonar izquierda, probablemente coincidiendo con la clínica de disnea de 1 mes de evolución. El más reciente correspondería al de la arteria pulmonar derecha que, a su vez, es el más extenso y crítico, al comprometer todo el riego vascular del pulmón y, probablemente, sea el causante de la sintomatología de las últimas doce horas previas al éxitus. A su vez, esto apoya el hecho de que la cola coagulada del tromboémbolo de la arteria pulmonar izquierda representa una datación posterior ya que su presencia previa hubiese imposibilitado el paso del gran émbolo derecho, por lo que es un material coagulado peri/postmortem inherentemente ligado a las maniobras RCP y al proceso final de la muerte.

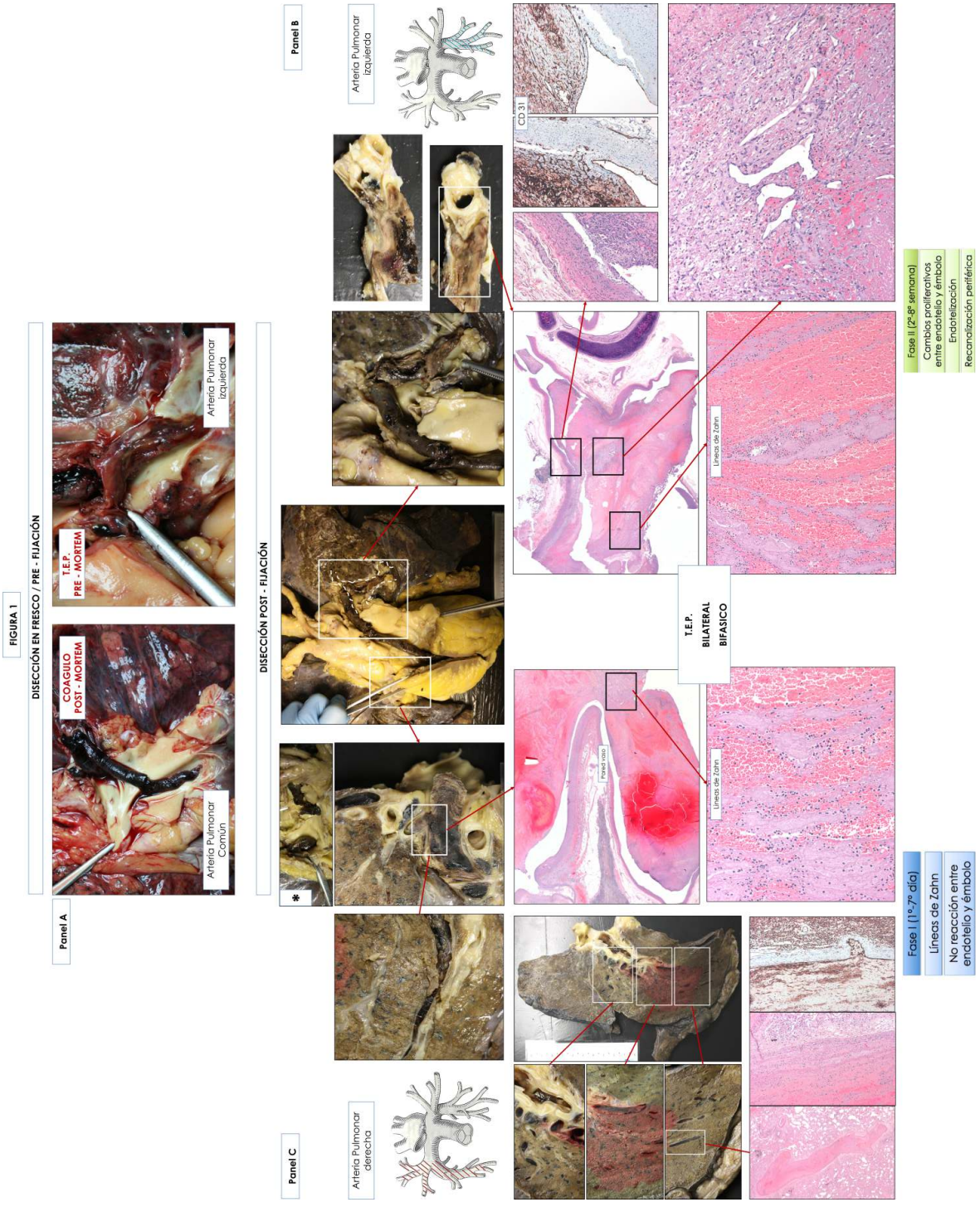


Figura 16.

Claves para diagnosticar adecuadamente el tromboembolismo pulmonar (tep) en la autopsia.
LUCENA J., PRIETO-CUADRA D.

7.2. CASO 2.

Paciente mujer de 83 años que ingresa por fractura traumática de cadera que precisó intervención quirúrgica, transfusión de concentrados de hematíes por anemización y evolución desfavorable con disnea y desaturación. Se descartó en Angio-TC la presencia de TEP observándose condensación pulmonar bilateral difusa, sugestivo de insuficiencia cardíaca, proceso infeccioso o embolismo graso. Ingresó en UCI precisando de Noradrenalina, intubación, fluidoterapia y antibioterapia empírica. En ecocardiograma se observó dilatación de cavidades derechas con insuficiencia tricuspidea asociada, hipotensión refractaria y bradicardia extrema. La causa de muerte sugerida, en ausencia de signos de TEP, fue un síndrome de distrés respiratorio del adulto por daño alveolar difuso con una lesión pulmonar aguda como consecuencia de transfusión de hemoderivados, conocido como Síndrome TRALI (Transfussion Related Acute Lung Injury), que provocó una insuficiencia respiratoria refractaria con hipotensión secundaria y finalmente la muerte.

Figura 17

En las imágenes macroscópicas se aprecian coágulos no adheridos en trayecto de salida de arteria pulmonar y ramas principales, cuyo calibre disminuye hasta hacerse filiforme conforme se ramifican las arterias pulmonares lobares, brillantes, rojo oscuros, no adheridos, sugestivos de coágulos postmortem. En las imágenes microscópicas se observa un corte transversal de coágulo con distribución desorganizada de componentes sanguíneos, así como un corte sagital con depósito eritrocitario inferior por la gravedad y una porción superior de componente plasmático sanguíneo.

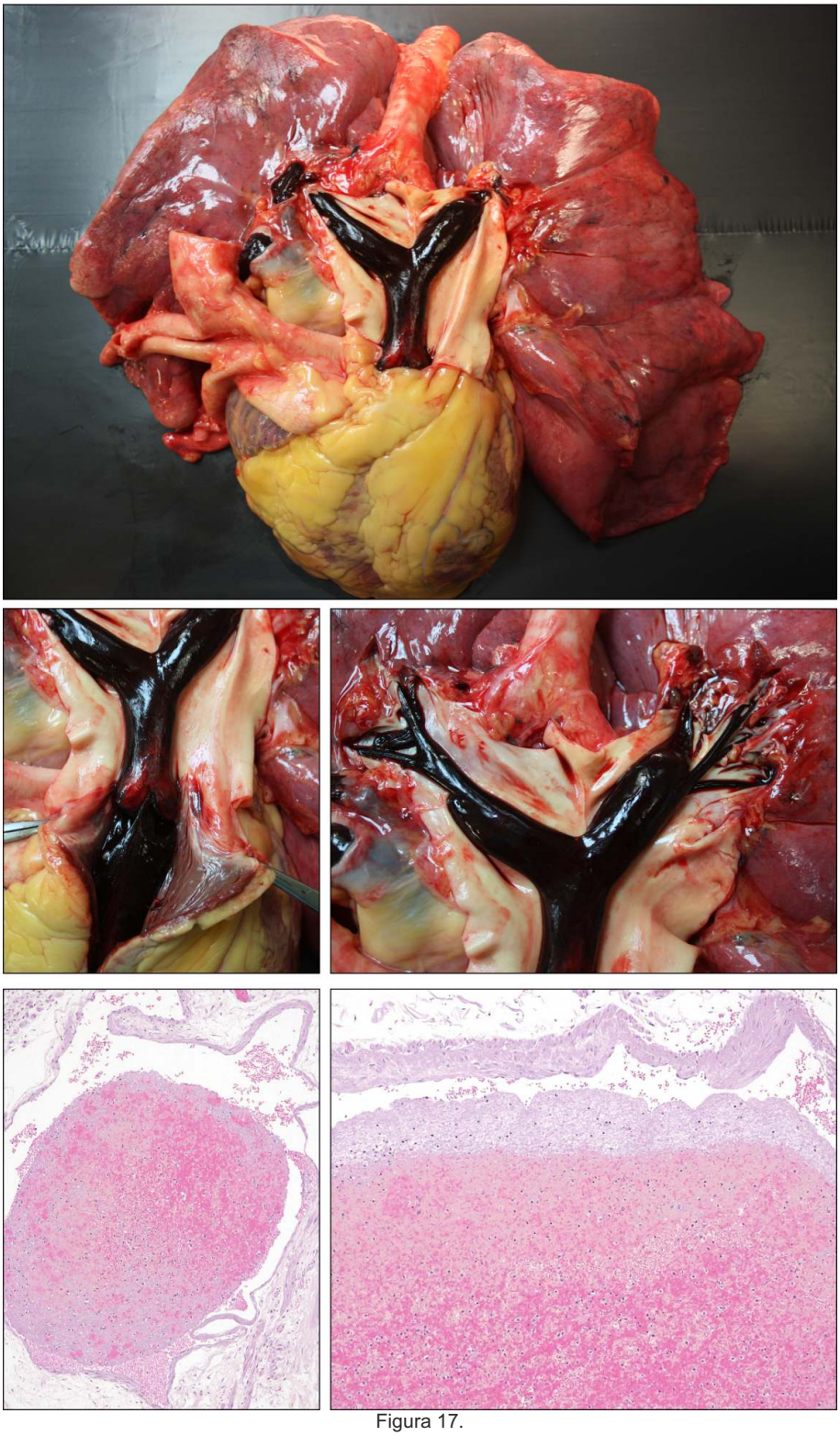


Figura 17.

Claves para diagnosticar adecuadamente el tromboembolismo pulmonar (tep) en la autopsia.
LUCENA J., PRIETO-CUADRA D.

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. LUCENA J, RICO A, VAZQUEZ R, MARIN R, MARTINEZ C et al. Pulmonary embolism and sudden–unexpected death: Prospective study on 2477 forensic autopsies performed at the Institute of Legal Medicine in Seville. J Forensic Legal Med. 2009;16:196-201.

2. CALDER KK, HERBERT M, HENDERSON SO. The mortality of untreated pulmonary embolism in emergency department patients. Ann Emerg Med. 2005;45(3):302-310.

3. PALOMO JL. RAMOS V, PALOMO-GÓMEZ I, BAUTISTA MD, BLANES A. Abordaje del tromboembolismo pulmonar en la sala de autopsias. Cuad Med Forense. 2013;19(1-2):33-38.

4. RO A, KAGEYAMA N, TANIFUJI T, FUKUNAGA T. Pulmonary thromboembolism: Overview and update from medicolegal aspects. Legal Med. 2008;10:57-71.

5. LUCENA J. La dimensión sanitaria y social de la patología forense: El modelo de la muerte súbita. Discurso de ingreso como Académico Numerario Electo en la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla. Edita Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla, 2023. ISBN 978-84-09-50311-7.

6. THEILADE J, WINKEL BG, HOLST AG, TFELT-HANSEN J, SVENDSEN JH, HAUNS S. A nationwide, retrospective analysis of symptoms, comorbidities, medical care and autopsy findings in cases of fatal pulmonary embolism in younger patients. J Thromb Haemost 2010; 8: 1723–1729.

7. VIRCHOW R. Thrombose und Embolie. Gefa¨ssentzu¨ndung und Septische Infektion. Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medicin. Frankfurt: Staatsdruckerei; 1856.

8. HSU WY, LANE HY, LIN CL, CAO CH. A population-based cohort study on deep vein thrombosis and pulmonary embolism among schizophrenia patients. Schizophr Res. 2015; 162(1-3):248-252.

9. GARAMENDI PM, LUCENA J, GÓMEZ M, SEGOVIA J. Pulmonar artery pathology. In: Lucena J, García–Pavía P, Suárez-Mier MP, Alonso–Pulpón L, Eds. Clinico-Pathological Atlas of Cardiovascular Diseases. Springer International Publishing. Switzerland, 2015. pp. 31-52.

10. SARVAIYA N, LAPITSKAYA Y, DIMA L, MANU P. Clozapine-Associated Pulmonary Embolism: A High-Mortality, Dose-Independent and Early-Onset Adverse Effect. Am J Ther. 2018;25:e434-e438.

11. SORIA JM, MORANTE PE, VILA J, SOUTO JC, et al. Multilocus genetic risk scores for venous thromboembolism risk assessment. J Am Heart Assoc. 2014;3(5):e001060.

12. MEIBNER L, SCHÜRMANN P, DÖRK T, HAGEMEIER L, KLINTSCHAR M. Genetic association study of fatal pulmonary embolism. Int Legal Med. 2021;135:143-151.

13. LUDWIG J. Handbook of autopsy practice. 3rd ed. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2002

14. Morpurgo M, Schmid C. The spectrum of pulmonary embolism. Clinico-pathological correlations. Chest. 1995;107:18S-20S.

15. GROSHONG SD, TOMASHEFSKI SD JR, COOL CD. Pulmonary vascular diseases. In: Tomashefski SD Jr, Cagle PH, Farver CF, et al. Dail and Hammar´s Pulmonary Pathology. Volume 1: Non neoplastic diseases. 3rd Edition. Springer: New York, 2008.

16. MANSUETO G, COSTA D, CAPASSO E, VARAVALLO F, BRUNITTO G et al. The dating of thrombus organization in cases of pulmonary embolism: an autopsy study. BMC Cardiovasc Dis. 2019;19:250.

17. FINESCHI V, TURILLAZZI E, NERI M, POMARA C, RIEZZO I. Histological age determination of venous thrombosis: a neglected forensic task in fatal pulmonary thrombo-embolism. Forensic Sci Int. 2009;186:22–8.

18. KAPTEIN FHJ, KROFT LJM, HAMMERSCHLAG G, NINABER MK, BAUER MP, HUISMAN MV, KLOK FA. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism. Thrombosis Research. 2021;202;162–169.

19. TADLOCK MD, CHOULIARAS K, KENNEDY M, TALVING P, OKOYE O, AKSOY H, et al. The origin of fatal pulmonary emboli: a postmortem analysis of 500 deaths from pulmonary embolism in trauma, surgical, and medical patients. Am J Surg. 2015;29(6):959-968.