



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
MEDICINA LEGAL

**“UTILIDAD DE LA TÉCNICA HISTOQUÍMICA CON RODIZONATO DE
SODIO Y ÁCIDO CLORHÍDRICO EN EL DIAGNÓSTICO DE HERIDAS
PRODUCIDAS POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO”**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

PRESENTADO POR
DRA. DIANA CAROLINA BALAM XOOL

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA LEGAL

DIRECTOR DE TESIS
DR. FERNANDO GARCÍA DOLORES

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
MEDICINA LEGAL

**“UTILIDAD DE LA TÉCNICA HISTOQUÍMICA CON RODIZONATO DE
SODIO Y ÁCIDO CLORHÍDRICO EN EL DIAGNÓSTICO DE HERIDAS
PRODUCIDAS POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO”**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

PRESENTADO POR
DRA. DIANA CAROLINA BALAM XOOL

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA LEGAL

DIRECTOR DE TESIS
DR. FERNANDO GARCÍA DOLORES

2014

UTILIDAD DE LA TÉCNICA HISTOQUÍMICA CON RODIZONATO DE SODIO Y ÁCIDO CLORHÍDRICO EN EL DIAGNÓSTICO DE HERIDAS PRODUCIDAS POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO.

Dra. Diana Carolina Balam Xool

Vo. Bo.

Dr. Víctor Hugo Soto Flores

Profesor Titular del Curso de Especialización en Medicina Legal

Vo. Bo.

Dr. Antonio Fraga Mouret

Director de Educación e Investigación

DIRECTOR DE TESIS

Vo. Bo.
Dr. Fernando García Dolores

Perito Patólogo adscrito al Instituto de Ciencias Forenses “Dr. Guillermo Soberón” del Distrito Federal

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Fernando García Dolores** por su paciencia, tiempo y dedicación, sin él esta investigación no habría sido posible.

A mi esposo **Mauricio** por haber recorrido este camino junto a mí, apoyándome en todo momento y alentándome a dar siempre lo mejor.

A mi **Mamá** por ser un ejemplo de amor incondicional y por enseñarme el valor de la responsabilidad, el trabajo y la perseverancia.

A mis amigos y futuros colegas **Irasema, Iván, Andrés y Uziel** por haber compartido junto a mí esta gran experiencia.

A todos los **Profesores** que nos brindaron sus enseñanzas y experiencias a lo largo de estos tres años.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	46
OBJETIVOS	47
MATERIAL Y MÉTODOS	48
RESULTADOS	54
DISCUSIÓN	60
CONCLUSIONES	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXO	67

RESUMEN

Debido a que el examen microscópico convencional del material post mortem en muchas ocasiones resulta insuficiente para el diagnóstico de las heridas por proyectil de arma de fuego, es necesario utilizar un método que permita evidenciar algún componente propio de los residuos del disparo, para dar mayor peso al dictamen requerido en estos casos. Por tal motivo, el presente estudio de investigación, propone un método de tinción de tejidos de cadáver utilizando Rodizonato de sodio como un marcador para residuos de plomo en fragmentos de piel y una prueba confirmatoria con ácido clorhídrico. Se estudiaron dieciséis muestras de piel tomadas de heridas por proyectil de arma de fuego, preservadas en bloques de parafina, enviadas al servicio de Patología Forense del Instituto de Ciencias Forenses del Distrito Federal durante el periodo de enero de 2010 a abril de 2013. Tras su análisis con tinción de hematoxilina y eosina, 14 de las muestras correspondieron heridas por proyectil de arma de fuego, de las cuales nueve resultaron positivas para ambas tinciones y dos lo fueron sólo para el Rodizonato de sodio. Al tratarse de una prueba sencilla, fácil de interpretar y realizar, puede llegar a ser una herramienta útil para el perito médico legista.

Palabras claves: Patología forense, residuos de disparo, piel, Rodizonato de sodio, ácido clorhídrico.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la cantidad de homicidios con armas de fuego se ha ido incrementando rápidamente en nuestro País.

La comprensión de la verdadera naturaleza de la lesión y la información sobre la dirección de los disparos son esenciales en el análisis del perito médico legista y debe ser claramente demostrado en su informe de necropsia. Sin embargo, en ocasiones las características macroscópicas de las heridas por proyectiles de arma de fuego están alteradas y no permiten hacer un diagnóstico preciso, en estos casos el laboratorio de Patología Forense adquiere un papel relevante.

Encontrar métodos simples y fiables para lograr un análisis histopatológico más completo y llegar a resultados satisfactorios es un objetivo constante. Por lo que esta investigación propone la técnica histoquímica de Rodizonato de sodio, la cual aplicada a fragmentos de piel sospechosos permite evidenciar residuos del disparo, específicamente plomo, aportando un elemento más para la integración del diagnóstico de herida por proyectil de arma de fuego, complementando los hallazgos de las técnicas histológicas tradicionales como la tinción de hematoxilina y eosina.

ANTECEDENTES

ARMA DE FUEGO

Reciben este nombre instrumentos de dimensiones y formas variadas destinados a lanzar violentamente ciertos proyectiles, aprovechando la fuerza expansiva de los gases que se desprenden al inflamarse, de forma instantánea, sustancias explosivas en un espacio confinado. Conservan el nombre genérico de armas de fuego porque en los modelos primitivos los disparos iban acompañados de una llama por la boca del arma. ⁽⁴⁾

Las armas de fuego son cargadas con cartuchos, en los cuales se encuentra el proyectil que será disparado, así como la carga iniciadora y la pólvora o propelente, que son los responsables de impulsarlo.

COMPONENTES DEL CARTUCHO

El diccionario Oxford define un cartucho como "una estructura que contiene una carga de explosivo propulsora de armas de fuego, con una bala o un tiro para armas portátiles". Otros términos, como munición, cartucho de munición, o redonda, también se utilizan para cartuchos y son igualmente aceptables. Bala, sin embargo, es erróneamente utilizado en este contexto y debe reservarse para el proyectil solamente.

Un cartucho de munición consiste en una carga iniciadora, el propelente o pólvora, y la bala o proyectil, todos estos contenidos por una vaina en forma

de cilindro. La munición de escopeta normalmente contiene numerosos proyectiles o perdigones que están totalmente encerrados dentro de la vaina del cartucho. ⁽⁵⁾

VAINA O CÁPSULA: La vaina es un cuerpo cilíndrico, hueco, abierto en un extremo denominado “cuello” y cerrado en el opuesto, llamado base. Son generalmente hechas de latón, una composición de 70% de cobre y 30% de zinc; pero se pueden elaborar con otros materiales tales como el acero, recubierto con zinc, latón, cobre, o laca; el niquelado; el cuproníquel (aproximadamente 80% de cobre y 20% de níquel); el metal dorado (aproximadamente 90% de cobre y 10% de zinc); el aluminio recubierto de teflón; y plástico en algunos casos. En segundo lugar en popularidad al latón, está el acero. La base, lleva la zona de percusión, que pone en marcha la carga iniciadora o cebador. Los cartuchos de escopeta suelen ser de plástico con una base de latón o de acero recubierto. ^(5,6)

CARGA INICIADORA O CEBADOR: Las composiciones de iniciación para municiones son mezclas que, cuando son sometidas a la percusión, proporcionan una repentina ráfaga de fuego que sirve para encender el propelente dentro de la vaina del cartucho. Una composición de iniciación debe suministrar un volumen relativamente grande de los gases calientes y partículas sólidas calientes sin el desarrollo de una onda de detonación.

La mayoría de las composiciones de iniciación se componen de mezclas de uno o más agentes detonantes iniciales, con agentes oxidantes, combustibles, sensibilizadores, y agentes aglutinantes.

Los *explosivos* utilizados incluyen azidas, fulminatos, compuestos diazo, nitro o triazol, por ejemplo azida de plomo o plata, fulminato de mercurio, estifnato de plomo, TNT, PETN (que también actúan como sensibilizadores), otros son sal dinitrodihydroxydiazobenzeno (diazinato), sales de dinitrobenzofuroxano, y sales de perclorato o nitrato de compuestos metálicos de amonio. La mayoría de las formulaciones de iniciación más recientes contienen un explosivo llamado 'dinol', el nombre químico es DDNP (diazodinitrofenol).

Los *oxidantes* usados incluyen nitrato de bario, clorato de potasio, dióxido de plomo, y nitrato de plomo. Así como óxido de zinc, nitrato de potasio, nitrato de estroncio y peróxido de zinc

Los *combustibles* utilizados incluyen sulfuro de antimonio (que también actúa como un friccionador), goma árabica (que también actúa como un agente de unión), siliciuro de calcio (que también actúa como un friccionador), nitrocelulosa, negro de carbono, tiocianato de plomo, y polvos metálicos tales como aluminio, magnesio, circonio, titanio, níquel, zinc o sus aleaciones.

Los *friccionadores* utilizados incluyen cristal de tierra y polvo de aluminio.

Los *sensibilizadores* incluyen tetraceno, TNT, PETN; y los *aglutinantes* incluyen goma arábica, goma de tragacanto, dextrina, sodio alginato, y cemento de goma. ^(5,6)

En la munición convencional el plomo, antimonio y bario se emiten cuando ésta se descarga. Estos tres elementos son indeseables desde el punto de vista de la salud y plantean un problema importante para los instructores de armas de fuego. Para resolver este problema Dynamit Nobel AG desarrolló un cebador no tóxico llamado Sintox. El Estifnato de plomo se sustituye por 2-diazo- 4,6-dinitrofenol (diazol) y el nitrato de bario y sulfuro de antimonio son sustituidos por una mezcla de peróxido de zinc y polvo de metal de titanio. El uso de este cebador junto con una bala totalmente encamisada (base también cerrada) elimina completamente el problema para la salud, sin embargo, su uso sigue siendo limitado. ⁽⁵⁾

PROPELENTES, PROPULSORES O PÓLVORAS: Los propulsores de municiones de armas portátiles pueden ser definidos como "material explosivo que es formulado, diseñado, fabricado e iniciado de una manera que permita la generación de grandes volúmenes de gases calientes en rangos controlados y predeterminados."

La velocidad de combustión es extremadamente importante porque si el propelente libera gases calientes demasiado rápido, se detona, destruyendo

así el arma y, posiblemente, causando daño al tirador. Si se quema muy lentamente, es ineficiente, y la bala carecerá de velocidad suficiente. ^(5,6)

Los propelentes se refieren con frecuencia como la pólvora, carga en polvo, o simplemente como carga o polvo. Sin embargo, son muy raramente un polvo verdadero y se fabrican en una amplia gama de colores, formas y tamaños. Es sumamente importante que los gránulos propulsores no contengan grietas, poros y cavidades, ya que esto podría causar la combustión interna del gránulo, lo que puede llevar a la detonación o presión excesiva.

Desde la introducción de la pólvora sin humo en el período comprendido entre 1870 y 1890, el uso de la pólvora negra como propelente para armas pequeñas ha disminuido sustancialmente. Todavía se utiliza actualmente como un propulsor para algunos propósitos específicos, por ejemplo pistolas de patada de despeje y bengalas de señales. La pólvora negra sufre de varias desventajas principales, a saber, (a) una gran cantidad de residuo sólido después de la combustión que atrae la humedad atmosférica lo que provoca la oxidación del arma, (b) la suciedad que también puede afectar el buen funcionamiento del mecanismo del arma, (c) gran cantidad de humo formado después de la combustión, que puede oscurecer la vista del tirador, y (d) el humo puede dar la posición de disparo. La pólvora negra es una mezcla mecánica de carbón, salitre (nitrato de potasio) y azufre en la

proporción típica de 15:75:10, respectivamente. El carbón vegetal es el combustible, el salitre suministra el oxígeno necesario para la combustión en un espacio confinado, y el azufre es un agente de unión que ayuda a mantener unida la mezcla y en un grado mucho menor también actúa como un combustible. La pólvora negra es oscura y granular; la velocidad de combustión es controlada por el tamaño de la granulación. Al quemarse produce un denso humo blanco que contiene partículas extremadamente pequeñas mantenidas temporalmente en suspensión por la combustión de gases calientes. ⁽⁵⁾

Las modernas pólvoras sin humo para armas pequeñas contienen casi exclusivamente nitrato de celulosa plastificada (NC) como el ingrediente principal oxidante (hexanitrate de celulosa, comúnmente conocida como nitrocelulosa). Otros productos químicos se agregan para fines específicos: plastificantes-oxidantes de alta energía tales como nitroglicerina (NG-glicerilo trinitrato) para aumentar el rendimiento; combustibles tipo plastificante como los ftalatos, adipato de poliéster, uretano para mejorar las características físicas y de procesamiento; y, estabilizantes tales como difenilamina, 2-nitrofenilamina, dinitrotolueno, N-metil-p-nitroanilina, centralitos, o acarditos (por ejemplo, N, N1-difenilurea), para aumentar la estabilidad química mediante la combinación con los productos de la descomposición, entre otros.

Las pólvoras sin humo dejan relativamente pocos residuos sólidos en la combustión y producen mucho menos humo que la pólvora negra. La combustión de pólvora sin humo produce principalmente nitrógeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono, hidrógeno y vapor de agua. La cantidad de pólvora sin humo varía dependiendo del calibre y peso de la bala, presión requerida, velocidad, el espacio disponible dentro de la vaina de cartucho / cámara y así sucesivamente. ^(5,6)

PROYECTILES: Los proyectiles convencionales para armas de fuego son balas y perdigones, cada uno de los cuales pueden diferir de otros de la misma clase según el tamaño, forma, peso, composición y las propiedades físicas. Hay una amplia variedad de armas de fuego, y la elección de munición disponible presenta un número muy grande de combinaciones de armas / munición.

Balas. La bala es la parte del cartucho que sale por la boca del cañón cuando el arma de fuego es descargada. Las balas modernas se dividen en dos categorías: de plomo y las que tienen un revestido o camisa de metal. Las balas de plomo fueron utilizadas tradicionalmente sólo en revólveres y cartuchos .22 de fuego anular; mientras que las balas con camisa de metal en las pistolas automáticas y rifles de alta velocidad. Estas generalizaciones, sin embargo, ya no son así. Cada tipo de bala está diseñado para un propósito específico y el intervalo de diseños de balas disponibles para una

sola arma de fuego puede ser sustancial, por ejemplo con cono truncado, de cono o punta de aguja, spitzer, nariz plana, bola redonda y así sucesivamente, todas las cuales están disponibles en una gama de calibres. Incluso el diseño de la base de la bala puede variar. ⁽⁷⁾

También hay una amplia variedad de diseños del núcleo y revestimiento, camisa o chaqueta de la bala incluso teniendo en cuenta las diferencias de composición. Las balas pueden ser: sin chaqueta o camisa, o con encamisado parcial o total. Las balas sin recubrimiento son generalmente limitadas a revólveres o pistolas de bajo consumo y rifles. Estas balas pueden tener su superficie recubierta con una capa muy delgada de material de cobre o latón que se utiliza como un lubricante y por razones estéticas. Esto se conoce como una "capa" o "baño" y no es una chaqueta de bala en el sentido convencional de la palabra. Las balas sin revestir con frecuencia se lubrican con alguna forma de cera o grasa para prevenir o reducir las incrustaciones de plomo en el cañón del arma. Las balas de mayores velocidades tienen que ser parcial o completamente cubiertas por una camisa, ya que la bala de plomo sin camisa disparada a gran velocidad puede sufrir deformaciones y tener una cantidad perjudicial de plomo despojado de su superficie por los surcos del estriado. Tal plomo depositado en el interior del barril tiene un pronunciado efecto en la precisión de disparos siguientes. Las balas de plomo sin camisa también son propensas a sufrir daños por los mecanismos de alimentación de armas automáticas. ^(7,8)

Las balas modernas son proyectiles no esféricos para su uso en cañones estriados. Están diseñadas para el poder de penetración o poder de potencia (transferencia de toda la energía cinética en el impacto y así rápidamente detener al enemigo o diana) o una combinación de ambos. Esto se consigue mediante el diseño físico y la selección de materiales con propiedades físicas adecuadas. El material de la camisa de la bala es casi siempre más dura que el material del núcleo, con la única excepción de los chalecos de balas perforantes.

Los materiales de la camisa de la bala incluyen metal dorado, cuproníquel, acero, níquel, zinc, cromo, cobre o acero recubierto, bronce, latón, entre otros. La chaqueta de metal dorado (90% de cobre y 10% de zinc) es, con mucho, la más común.

El núcleo de la bala se puede hacer de una variedad de materiales; el plomo es el más utilizado, debido a su alta densidad y al hecho de que es barato, de fácil obtención y fabricación. Pero también se pueden encontrar de cobre, latón, bronce de aluminio, acero (a veces endurecido por tratamiento térmico), uranio empobrecido, zinc, hierro, tungsteno, caucho y diversos plásticos. Las balas con núcleo de plomo y una chaqueta de aleación de cobre son las más comunes.

Las balas de plomo pueden ser de mina blanda o plomo endurecido por antimonio, estaño, o ambos. La cantidad de materiales de aleación varía considerablemente, por ejemplo, antimonio <0,5% hasta tan alto como 12%, pero típicamente 2% a 5%, estaño <0,5% a 10%, en promedio 3 a 5%. Una mayor cantidad de estaño se requiere para dar el mismo grado de dureza que la del antimonio y, en consecuencia, por razones de costo, el antimonio se usa más frecuentemente. ⁽⁸⁾

Perdigones. Son esferas de metal disponibles en varios tamaños, grados de dureza y materiales en función del uso previsto. En cartuchos de escopeta los gránulos están contenidos dentro de la vaina del cartucho. Los gránulos en un cartucho normalmente son del mismo tamaño y composición, pero los cartuchos están disponibles para que se carguen con una gama de diferentes tamaños de perdigones (dúplex).

El disparo de los perdigones de escopeta puede ser suave, es decir, llevar un contenido inferior al 0,5% de aleación de metal, o duro (disparo frío), es decir, que contengan plomo entre 0,5% y 2,0%, aleación de metal o tiro extra duro, es decir, que contengan 3% de plomo o más metales en aleación. Igualmente existe el disparo de acero el cual se introdujo por razones ambientales, ya que el plomo es tóxico. Sin embargo, el disparo de acero ha demostrado dar problemas de rendimiento, lo que conduce a una búsqueda de una alternativa no tóxica adecuada.

Hasta cuatro o cinco tacos pueden estar presentes en un cartucho de escopeta, aunque dos o tres es lo más común. Los tacos se utilizan para proporcionar un sello hermético para el gas así como para que los proyectiles no pasen al interior del cilindro, para separar el propulsor de los perdigones y para cerrar la boca de la vaina del cartucho. Los tacos se hacen generalmente de papel o cartón, plástico (gama de colores), fieltro (que puede o no ser encerado o engrasado) y, ocasionalmente, material tipo tela. Y puede estar cubierto con una etiqueta de papel que contiene información impresa acerca del cartucho. ^(7,8)

RESIDUOS DEL DISPARO DE ARMA DE FUEGO.

Cuando un arma de fuego es disparada, sale del arma más que el simple proyectil. En conjunto con la bala (o los perdigones) y la pólvora no quemada o parcialmente quemada, varias formas de residuos de plomo típicos del disparo pueden ser eyectados. Los tipos más notables de residuos de plomo son los muy visibles vapores de plomo o “humo” producido por la turbulencia de alta velocidad de los gases de expansión en el cañón.

Los gases, vapores y partículas formadas por la descarga de la munición en un arma de fuego se conocen colectivamente como residuos de descarga de arma de fuego (RDA) o residuos de disparo (RD). Cualquier cosa presente

en la munición puede contribuir, junto con una posible contribución del arma de fuego en sí. El residuo consta de componentes inorgánicos y orgánicos.

Los componentes inorgánicos proceden de la carga iniciadora, taza o contenedor, sellado de disco, la vaina del cartucho, aditivos inorgánicos para la pólvora, el núcleo y chaqueta de la bala, que contienen pigmentos en lacas de colores, selladores, lubricantes, trazas de impurezas inorgánicas de cualquiera de los componentes y también de la cámara interior del barril y cañón del arma. Las principales fuentes de descarga de residuos inorgánicos son la bala y el cebador.

Los componentes orgánicos proceden de la mezcla del cebador, el propelente, selladores, lacas, lubricantes de la munición y lubricantes, así como de restos orgánicos ya presentes en el interior del arma antes de la descarga. La fuente principal de descarga de residuos orgánicos es la pólvora. ^(9,5)

Información detallada acerca de la composición de las armas, balas, lubricantes, pólvoras, cebadores y residuos de los disparos fue descrita por Walker. El análisis de noventa y seis marcas y tipos de cartuchos tanto de pólvora negra como pólvora sin humo así como cartuchos recientes y antiguos demostró que los elementos (antimonio, bario, plomo, mercurio o potasio) o componentes de los elementos más frecuentemente encontrados

son los que constituyen a la carga iniciadora o cebador. Los iniciadores más antiguos tuvieron una mayor cantidad de mercurio y potasio; los más recientes tienen una mayor concentración de plomo y bario. El antimonio se encuentra en ambos tipo de munición. ⁽¹⁰⁾

Aproximadamente el 30% de la energía química se convierte en energía cinética; el resto está alojado en la descarga de residuos. La descarga de una ronda de munición en un arma de fuego produce alta temperatura y alta presión durante un período de tiempo muy corto. Un período de tiempo típico en el que el martillo o percutor golpea la cartilla a la viñeta y el tiro sale por la boca del cañón está en el rango de 0,03 segundos. Como resultado del período de tiempo y la naturaleza de los el proceso de descarga, sólo se produce la mezcla parcial de los componentes y de ahí, la naturaleza tan heterogénea de los residuos.

Cuando un cartucho de munición es descargado, el proyectil (es) y residuos de descarga se emiten principalmente por la boca del cañón, pero también del cilindro, puertos de inyección y otros respiraderos del arma. Algunos de estos residuos pueden ser depositados sobre la piel, cabello y la ropa del tirador.

La alta presión de los gases propulsores en la boca del cañón se libera en el aire causando una turbulencia considerable y producen una potente

explosión. Este efecto se conoce como ráfaga del bozal o del cañón. La explosión de la boca del cañón casi siempre contiene pólvora quemada o parcialmente quemada y hollín. Si el arma es disparada perpendicularmente a la diana, el patrón de residuos resultante estará en un área aproximadamente circular alrededor del orificio de entrada. El diámetro del círculo y la densidad de los residuos dependen de la distancia entre la boca del cañón y la diana. ⁽⁵⁾

El humo resulta de la combustión incompleta de los carbonos en cualquiera de sus múltiples variedades y combinaciones o adiciones. Resulta de la combustión incompleta de los productos carbonados, por dos razones: la compleja composición de dichos productos, que hallándose integrados por sustancias volátiles y orgánicas, destilan sus productos fraccionadamente y se inflaman a distintas temperaturas; y la insuficiente cantidad o irregular distribución del oxígeno necesario para la combustión completa de los mismos. No existe una única clase de humo, sino muy numerosas. De ahí que lo correcto sea hablar de "humos". Hay tanto variedad de humos como elementos capaces de producirlos, en razón de su combustión incompleta. Los humos están integrados por elementos sólidos (compuestos orgánicos destilados, partículas de carbón y metálicas), líquidos (vapor de agua condensado) y gaseosos (óxido de carbono, hidrocarburos gaseosos y vapor de agua). ⁽¹¹⁾

La razón para que el humo salga delante de la bala puede ser porque algunos de los gases de descarga que escapan delante de la bala cuando el cuello del cartucho comienza a expandirse justo antes de que la bala comienza a moverse fuera de la caja del cuello, o bien porque los gases escapan más allá de la bala antes de que ésta se acople completamente con el estriado y porque no es absolutamente completa la obturación, permitiendo que los gases escapen delante de la bala a través de los surcos del estriado. Los gases propelentes se expanden rápidamente cuando se liberan a la atmósfera, acelerando a velocidades mucho mayores que la de la bala y esta es la razón por la que la bala está rodeada por una gran nube de humo. Como resultado de estos efectos, los residuos se depositan sobre la superficie de la bala. Cada vez que la bala penetra el objetivo, debido a la acción de limpieza del material del objetivo, algunos de los residuos en la superficie de la bala se transfieren al perímetro del orificio de entrada. Esto se produce independientemente de la variedad de fuego. Al pasar a través del objetivo, algunos, si no todos, los residuos ligeramente adheridos se retiran de la superficie de la bala y por consiguiente no están presentes o están presentes en un grado mucho menor en el perímetro del agujero de salida. Esto permite la identificación de agujeros de bala y marcas de balas, y la diferenciación entre orificios de entrada y salida. ^(11,5)

PANORAMA GENERAL DE LAS LESIONES PRODUCIDAS POR PROYECTILES DE ARMA DE FUEGO.

Definición: Las lesiones producidas por los proyectiles de las armas de fuego –cualquiera sea su categoría- son en primer término lesiones contusas y secundariamente lesiones contuso-perforantes o bien contuso-contusivas. Los factores que determinan las características lesivas son: el tipo de arma, el tipo de proyectil empleado, el calibre del arma, número de disparos efectuados, distancia a la que fueron efectuados los disparos y región anatómica vulnerada.

De manera esquemática, hay que considerar en estas heridas: una herida u orificio de entrada, un trayecto y un orificio de salida (en el caso de existir).

(11,4)

Características del orificio de entrada.

Número. El orificio de entrada es por lo general único y corresponde al proyectil que ha sido disparado, siendo la regla teórica que existen tantos orificios como proyectiles disparados. Sin embargo, no siempre ocurre así, pudiendo darse las dos alternativas opuestas: a) Orificio único originado por varios proyectiles; y, b) Orificio múltiple originado por un único proyectil.

Forma. Lo lógico debería ser que el orificio fuera redondeado y regular. Esto no ocurre con los disparos efectuados con el cañón del arma aplicado contra el plano cutáneo en las armas cortas o a distancias inferiores a un metro. Entonces el orificio puede revestir formas variadas, dentro de lo irregular, estrellado, desgarrado, mismo con aspecto de estallido.

Independientemente de lo dicho, existe otra serie de factores que hacen que el orificio de entrada producido por un proyectil, sea de arma corta o larga (con excepción de los de escopetas cargadas con cartuchos), presente a veces particular configuración:

- a) Piedelievre (1926) ha señalado que para un arma de determinado calibre, la dimensión del orificio de entrada depende en cierto modo de la forma del proyectil y esto en relación a la elasticidad de la piel. Proyectiles con punta aguzada producen orificios más pequeños.
- b) La oblicuidad del disparo puede también hacer variar el aspecto del orificio de entrada. El orificio puede presentarse ovalado en forma de elipse, con el anillo de Fish en forma de medialuna, correspondiendo la concavidad al lado en el que fue hecho el disparo; si el proyectil ha penetrado casi tangencialmente a la piel, puede determinar la formación de un surco o de una simple línea erosiva epidérmica. Cuanto mayor sea la oblicuidad del disparo, tanto más se alargará el orificio. La bala puede no penetrar en la piel cuando el ángulo de tiro es de 5 a 10 grados con respecto a dicho plano.

c) La estructura de los planos anatómicos subyacentes a la piel tiene también su influencia. Cuando existe un plano óseo, y el cañón del arma está aplicado sobre la piel en el momento de salir el proyectil salen también los gases, que chocán contra aquel hueso “replegándose”, deformando y estallando la piel, con lo cual el orificio adopta una forma estrellada. ⁽¹¹⁾

Dimensiones. Respecto de esta cuestión, pueden presentarse tres casos: según que el orificio de entrada sea igual, o más pequeños o mayor que el de salida. El primer caso es excepcional; el segundo es muy frecuente y, el tercero poco frecuente. Las condiciones de producción de cada una de estas situaciones son las siguientes:

- Orificio de entrada igual al de la salida. Se requiere la reunión de las siguientes condiciones: a) igualdad del ángulo de incidencia y del de reflexión, b) bala animada de gran velocidad de rotación, c) densidad uniforme de los tejidos atravesados, y d) bala no deformada.
- Orificio de entrada menor que el de salida: para que esto se produzca se necesita: a) ángulo de incidencia recto y ángulo de reflexión más o menos agudo, b) bala deformada al salir, y c) arrastre al exterior de esquirlas y cuerpos extraños.

- Orificio de entrada mayor que el de salida: Para su producción es necesario que: a) el ángulo de incidencia sea agudo y el de reflexión recto, b) la bala haya penetrado en el organismo arrastrando un cuerpo extraño, que puede ser un trozo de ropa abandonado en su trayecto antes de salir aquélla, c) el disparo haya sido efectuado a muy corta distancia, no superior a un centímetro, existiendo por debajo de la piel un plano óseo. ⁽¹¹⁾

Orificio de entrada propiamente dicho.

Plano cutáneo: *Características macroscópicas*. Lógicamente el orificio asienta a nivel de la piel o de las mucosas, pero no siempre y de modo absoluto ocurre así, ya que se pueden dar dos situaciones: la de los denominados orificios naturales, definidos como aquellos que formando parte de la normal estructura anatómica humana (boca, narinas, conductos auditivos, recto y vagina), representa simultáneamente la puerta de penetración del proyectil en el interior del organismo; y asimismo, la de los pseudo orificios de entrada, o sea casos en los que el proyectil no penetró en el organismo, pero existe una pérdida de sustancia ocasionada sea por un trozo desprendido de él, sea por una parte integrante de la vestimenta (botones) o del atuendo personal (reloj, anillos, etc).

Bordes del orificio de entrada.

Anillo de Fisch: El proyectil al salir por la boca del arma, lo hace arrastrando consigo las partículas de grasa, aceite, y de cualquier otro elemento extraño que se encuentre en el interior de aquel (proveniente de su limpieza o por el contrario de su descuidada conservación).

Al atravesar la piel, el proyectil determina en el instante mismo de su penetración un efecto contusivo.

Por esta doble circunstancia: a) depósito de impurezas y, b) acción contusa, quedan alrededor del orificio y por exclusiva acción del proyectil (la pólvora no interviene para nada aquí), dos zonas de 1 a 2 milímetros que se superponen en parte y que han recibido una denominación confusa y difusa, porque durante mucho tiempo se les consideró una sola y son:

1. Zona apergaminada, anillo o cinta de contusión, orla equimótica, halo marginal equimótico excoriativo, halo contuso o cintilla erosiva, según el autor. Resulta de la acción contusiva del proyectil en el momento de atravesar la piel, determinando el descubrimiento de la dermis, por recuperación menos elástica de la epidermis.
2. Halo o anillo de enjugamiento. Resulta del depósito de suciedades que arrastra el proyectil. Se sitúa por encima de la anterior y por dentro de la misma.

Ambas zonas reunidas constituyen el anillo de Fisch, exclusivo de los orificios de entrada. ⁽¹¹⁾

Interior del orificio.

Golpe o boca de mina de Hofmann. En los casos en que el disparo ha sido efectuado sobre un plano cutáneo subyacente a otro óseo, por ejemplo la región temporal, y asimismo el orificio del cañón del arma está aplicado contra la piel, o a ni más de dos o tres centímetros, sucede que al salir el proyectil también salen los gases que chocan contra el plano óseo, donde se “reflejan” al igual que un rayo de luz sobre un espejo, volviéndose contra la cara profunda de la piel y haciéndola estallar de modo variado.

Pero al mismo tiempo, el humo y los granos de pólvora se depositan en el interior de las paredes del orificio y no en su periferia, constituyendo el “el golpe de mina”, de Hofmann. ^(11,4)

Campo circundante del orificio.

Dependiente del arma.

Signo de Puppe-Werkgartner. Algunos tipos de revólveres y de pistolas presentan paralelamente al cañón, por debajo de éste, un eje metálico (bagueta), a veces integrándolo y otras separado del mismo, destinado a

mantener fijos sea el tambor o la culata cuando ésta es móvil, o sea para extraer las cápsulas del tambor.

Pues bien, cuando el disparo se efectúa con el arma aplicada sobre el plano cutáneo, se produce independientemente del orificio de entrada una impronta erosivo excoriativa superficial, que rápidamente se apergamina y que es el resultado de la acción contusiva del cañón o del eje, o de ambos a la vez, sobre la piel en el momento del disparo o más raramente de un simple efecto quemante. ⁽¹¹⁾

Signos dependientes de la pólvora:

Tatuaje. Definición y clasificación. Chavigny fue quien inició su análisis y lo definió como “los rastros coloreados que un disparo efectuado a corta distancia deja sobre los tejidos”, y agregó para fijar aún más la noción: el tatuaje es la huella dejada por todas las sustancias diversas, que al mismo tiempo que la bala, salen por la boca del arma. Romanese emitió un concepto claro, al decir que la acción del humo y de las partículas de pólvora incombusta es designada juntamente con el nombre de tatuaje. Gisbert Calabuig (1977) sostiene que el taraceo (del árabe *tarcias*: incrustación) y tatuaje existen solamente en el radio de acción de la pólvora al salir del cañón y está constituido por la conjunción de tres elementos: 1) la quemadura causada por la llama, 2) la incrustación de los granos de pólvora no quemados, más o menos separados

dependiendo de la distancia del disparo y 3) el depósito del humo de pólvora.

El tatuaje puede dividirse en: tatuaje verdadero y tatuaje falso o seudotatuaje. El primero no desaparece por la acción del lavado y se halla representado por: la quemadura o chamuscamiento o fogonazo y, por los granos de pólvora que, al no entrar en combustión, se han depositado en el piel. El segundo que desaparece por la acción del lavado, está formado por el ahumamiento o negro de humo. ^(4,11)

La distancia a que se registra el tatuaje en el orificio de entrada varía dentro de ciertos límites para cada tipo de arma, sea ésta corta o larga, y dentro de las cortas, según que: sean revólveres o pistolas, el calibre de uno u otro tipo y la carga de pólvora que lleva el proyectil.

El tatuaje puede faltar por una de las tres condiciones siguientes: a) porque se trata de un orificio de salida, b) porque la zona de la piel ha estado cubierta por tejidos, ropas o cabello, y c) porque la distancia a que el disparo fue efectuado ha sido inferior a un centímetro entre la boca del cañón y el plano cutáneo y entonces los restos de pólvora están dentro de la pérdida de sustancia. ⁽¹¹⁾

Caracteres histológicos:

1) *Signos de Okros*: Este autor ha mencionado una serie de particularidades históricas microscópicas a nivel del orificio de entrada.

A. *Anillo de infiltración grasosa cutánea*: Constituido por la infiltración de pequeñas gotas de grasa, en el tejido conectivo fibroso compacto subcutáneo. El tejido adiposo es destruido por la acción del proyectil; al salir las gotas de grasa de los adipocitos, aquéllas se difunden en los tejidos que constituyen las paredes del canal formado por el proyectil. Siendo mayor en el orificio de salida que en el de entrada.

B. *Anillo traumático del sistema fibroso elástico en el tejido conjuntivo subcutáneo*. El sistema fibroso elástico de la piel, al ser atravesado por un proyectil, se altera en forma característica: el retículo fibroso estalla, las fibras se rompen en varios puntos, se entremezclan entre sí, y se retuercen en forma de espiral. En el examen de cortes transversales del orificio se observa que este anillo traumático del tejido fibroelástico es menos ancho en el orificio de entrada que en el de salida. Esto puede ser observado en cadáveres de varias semanas o meses.

C. Anillo de desintegración del tejido adiposo. Histológicamente la capa de tejido adiposo subcutáneo se integra con el tejido conectivo en forma de conos simétricos. El proyectil al penetrar determina, por presión, un aplastamiento del tejido adiposo que hace que se desarticule de los conos conectivos, quedando éstos vacíos. Aparece entonces un anillo de conos vacíos, de uno o dos milímetros de ancho, en el orificio de entrada. En el orificio de salida este anillo es mayor.

D. Anillo de infiltración sanguínea en los límites del tejido conjuntivo subcutáneo y del tejido adiposo. Este signo sólo es observable si se procede a efectuar la separación completa del tejido adiposo de la capa de tejido conjuntivo. Entonces se constatará la zona infiltrada de sangre dispuesta en forma circular, periorificial de un espesor de un centímetro en el orificio de entrada y de 3 a 5 milímetros en el de salida.

E. Anillo de fibras conectivas fibrosas. En el momento de penetrar el proyectil en la piel, ejerce a lo largo de su trayectoria una presión lateral sobre el tejido conectivo fibroso que determina un cierre de sus mallas, dando lugar a un anillo a expensas del mismo tejido. Este anillo se encuentra en el orificio de entrada pero no en el de salida.

2) *Signo de la "T" invertida de Piedelievre, Balan y Etienne Martín.*

Los autores la denominaron específicamente "signo de la hemorragia subdérmica por tironamiento en el orificio de entrada".

El mecanismo de producción es el siguiente: todo el recorrido de un proyectil, a partir del momento en el que penetra en el cuerpo, es un verdadero cono de atricción rodeado de una capa hemorrágica que se extiende desde la superficie a la profundidad. El corte histológico muestra entonces en el orificio de entrada: una espesa hemorragia en capa en el tejido adiposo de la capa hipodérmica y a nivel del plexo vascular periglandular, pequeña hemorragia superpuesta a la precedente pero mucho menos importante ubicada en la zona papilar, pequeños focos hemorrágicos mínimos intradérmicos ubicados alrededor de las glándulas sebáceas y de los bulbos pilosos. El corte reproduce entonces esquemáticamente una letra T, cuya rama horizontal es hipodérmica y la vertical sigue el trayecto del proyectil.

3) *Signo de la basofilia de Krauland.* Este autor (1938) consignó tal característica en el orificio de entrada que interpretó como resultado de la acción calórica de proyectil o de la combustión de la pólvora.

- 4) *Signo de las pequeñas fibras de ropa de Dietz.* (1967) Este autor destacó que pequeños hilos de los tejidos que cubren la superficie corporal donde se asentó el disparo, pueden ser hallados en los primeros tramos del orificio de entrada, los que de ser hallados, representan un aporte diagnóstico positivo.
- 5) *Signo de las micropartículas de pólvora.* En las distancias cortas puede ocurrir que pequeños granos de pólvora sean arrastrados por el proyectil al salir del arma y se depositen en el orificio de entrada. ⁽¹¹⁾

Todos estos signos histológicos requieren de gran experiencia para ser descritos correctamente y muchos dependen de la presencia de elementos muy variables, como la vestimenta de la víctima y la incrustación de granos de pólvora.

Así mismo algunos son producidos por la acción contusiva y penetrante del proyectil, lo cual implica que pueden ser producidos por otras causas, que involucren estos mismos mecanismos.

Caracteres químicos:

Tienden a poner de manifiesto dos órdenes de productos existentes en el orificio de entrada por proyectiles disparados a corta distancia, o para mayor precisión, disparados dentro del radio que cubre el denominado tatuaje.

Dentro de esta distancia se podrá detectar químicamente la carboxi-hemoglobina de la sangre, los cationes o los aniones provenientes de la pólvora o de los proyectiles blindados.

Orificio de salida.

Número. Por lo común es equivalente al número de proyectiles que después de haber atravesado todo o parte del cuerpo, salen nuevamente al exterior. O bien puede ser menor ya que algunos proyectiles no saldrán del cuerpo. No obstante, existen dos situaciones menos frecuentes en que un proyectil puede ocasionar varios orificios, como ocurre por ejemplo cuando se segmenta en dos partes, o bien cuando efectúa un recorrido en sedal antes de salir definitivamente al exterior.

Forma. Por lo general es irregular, pero sin llegar a los caracteres de explosividad o desgarros múltiples del de entrada, especialmente cuando se trata de armas cortas.

Dimensiones. En general se acepta que: a) en los disparos efectuados a corta distancia y especialmente con armas cortas, es menor que el de entrada; b) en los efectuados a mediana distancia es igual al de entrada; c) en distancias mayores es mayor que el de entrada.

Orificio propiamente dicho

Las dos cuestiones de interés son la posibilidad de un “orificio natural” o bien la un “seudo orificio” de salida.

Orificio natural: Si bien mucha más excepcionalmente, aquí puede ocurrir exactamente lo mismo que lo señalado a propósito del orificio de entrada, es decir, que el proyectil salga al exterior por uno de aquellos orificios por ejemplo: el auricular, el ocular, o el bucal.

Seudo orificio de salida: Se entiende por tal, aquella pérdida de sustancia cutánea producida por esquirlas óseas, trozos metálicos desprendidos del proyectil o de partículas de ropa o de joyas, destruidas por la bala en su camino, la que a su vez no sale al exterior, por lo que aquella solución o soluciones de continuidad, pueden ser consideradas como auténticos orificios de salida, sino se efectúa una autopsia minuciosa y completa. ⁽¹¹⁾

Bordes del orificio cutáneo.

En primer término, es necesario mencionar lo que Romanese describió por vez primera (1921) con el nombre de “orletto contuso” del orificio de salida. Luego, y complementariamente, la disposición de los mencionados bordes, así como la excepcional presencia de granos de pólvora.

Halo contuso de salida: Según Romanese, el halo contuso excoriativo a nivel del orificio de salida se puede reproducir experimentalmente sobre el cadáver, si el disparo es hecho en forma tal que el proyectil no encuentre en su recorrido resistencias notables (por ejemplo óseo) y si, además, suceda que contra la piel que atravesó el proyectil se hallaba aplicado fuertemente un cuerpo resistente pero flexible, como lo es un cinto de cuero. El mecanismo de producción, en síntesis, sería debido no tanto a la naturaleza o a la fuerza viva del proyectil, sino a las características zonales: piel apoyada sobre un plano sólido.

Disposición: Los bordes del orificio de salida de piel, mucosas y vísceras, especialmente hígado y riñón (consistentes y compactos), se presentan evertidos y desgarrados.

Granos de pólvora: la pólvora, prácticamente nunca se encuentra en el orificio de salida, salvo si la lesión está muy cerca de la entrada, por ejemplo en un miembro o en la pared abdominal y, entonces observarse algunos granos cerca de él. ⁽¹¹⁾

DETECCIÓN DE RESIDUOS DE DISPARO DE ARMA DE FUEGO EN LAS MANOS.

Cuando se dispara un arma de fuego, la mano de quien lo hace puede resultar maculada por gases y derivados nitrados provenientes de la deflagración de la pólvora, bario, plomo y antimonio, (provenientes de la carga iniciadora).

Prueba de Rodizonato de sodio ^(12,13,14,15)

Feigl propuso, en 1954, la técnica del Rodizonato de Sodio la cual tiene como finalidad identificar el bario o plomo que pudieran haber maculado la mano de quien disparó. Tal identificación es posible en virtud de la coloración que resulta de la reacción química entre la sustancia de referencia y los elementos señalados, que son parte integrante de los cartuchos, a saber: plomo del proyectil, y bario del fulminante.

El propio Feigl señaló que en el momento en que una bala emerge de la boca de un arma de fuego va acompañada, entre otras cosas, por una “rociadura” de glóbulos de plomo probablemente fundidos. Estos glóbulos en tamaño y en resistencia al aire, y vuelan junto con la bala una considerable distancia. Estos depósitos son principalmente debido a los compuestos de plomo que se encuentran típicamente en las mezclas de cebadores del

cartucho. Sin embargo, cantidades significativas de este depósito puede ser resultado de la fricción generada por la interacción de bala / barril y de erosión de la superficie de las bases de balas, incluyendo la base abierta de balas encamisadas. En el caso de un revólver, residuos de plomo, entre otros tipos de residuos, también puede escapar de la brecha entre el cilindro y el cañón, y en un grado mucho menor, desde el puerto de expulsión de un arma de carga automática.

Dependiendo de la distancia del disparo, una mayor o menor cantidad de esta rociadura de plomo se depositará en el blanco, donde se adhiere a la superficie. Además, en los disparo de corta distancia también se puede detectar, junto con el plomo, bario.

El mayor inconveniente de esta técnica lo señala Travis E. Owen, del Laboratorio de Criminalística de la Policía del Estado de Louisiana en su artículo "Detección de Residuos de Plomo con Rodizonato de Sodio", en el que apunta que la prueba es ciega para balas de cobre o con camisa de acero. Sin embargo, tal parece que debido a sus múltiples cualidades, puede competir ventajosamente con cualquier otra técnica de aplicación rutinaria.

Técnica: La prueba de Rodizonato de sodio es un procedimiento en el que una sucesión de soluciones previamente preparadas de reactivo se aplican a

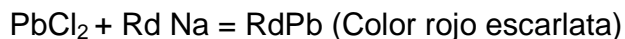
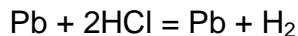
una superficie, tal como una prenda de la víctima, en un intento de detectar cualquier tipo de residuo presente.

El paso inicial en la secuencia de prueba es rociar la zona en tela de juicio con una solución saturada de Rodizonato de sodio en agua destilada. Esto es seguido por pulverización con una solución tampón (pH 2,8) que consiste en bitartrato sódico y ácido tartárico en agua destilada. Cualquier reacción de color rosa indica que puede haber plomo y/o bario, pero con el fin de ser objetivo, debe ser confirmada en un procedimiento adicional que es químicamente específico para el plomo. En este punto, de nuevo hay que señalar que la prueba es cromófora (productora de color) y que estos colores son dependientes de la presente metales y el grado de acidez. Con el fin de probar específicamente la presencia de plomo, un tercer reactivo se aplica por pulverización con una solución diluida de ácido clorhídrico. Este spray cambia el color en las áreas de color rosa a un color azul-violeta si el plomo está presente, y sólo si está presente.

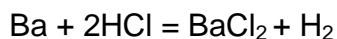
Cabe señalar en este punto que, si bien los químicos no comprenden completamente la reacción del Rodizonato de sodio y el plomo en el giro del rosa al azul, una explicación plausible es que el aumento de la acidez provoca la formación de un producto complejo azul que consta de Rodizonato de plomo y ácido clorhídrico.

Las reacciones químicas que se producen son las siguientes:

Plomo



Bario



Preparación de la solución Rodizonato de sodio: Solución acuosa de Rodizonato de Sodio al 0.2%, para preparar 10 ml, pesar 20 miligramos y aforar a 10 en un matraz volumétrico. La solución se satura si un sedimento ligero se observa en la parte inferior del vaso de precipitados después de agitar con una varilla de vidrio limpia agitación y toma un color marrón suave parecido al té. Esta solución deberá prepararse diariamente para su uso inmediato, cuidando de mantenerla protegida de la luz. No debe ser almacenada.

Preparación de solución buffer de pH 2,8: Disolver 29,3 granos (1,9 gramos) de bitartrato sódico y 23,1 granos (1,5 gramos) de ácido tartárico por 100 mililitros de agua destilada. Esto por lo general requiere tanto calor y agitación para completar en un período de tiempo razonable. Una combinación placa caliente / agitador magnético es conveniente para esto. Guarde la solución en un recipiente sellado.

Preparación de la solución de ácido clorhídrico al 5%: Combinar 5 mililitros de ácido clorhídrico concentrado con 95 mililitros de agua destilada. Guardar la solución en una botella sin contaminar y sellada.

Grado de Sensibilidad: Sensibilidad para el Bario: 0.25 microgramos de bario, dilución límite 1:200,000 y la sensibilidad para el Plomo: 0.1 microgramos de plomo en dilución 1:500,000.

QUIMICA DE LA PRUEBA DE RODIZONATO DE SODIO

El Rodizonato de sodio es un compuesto químico cuya fórmula es $C_6O_6Na_2$, con peso molecular de 214.04. Los sinónimos para este reactivo son sal de Rodizonato disódico; Sal disódico 5,6 Dihidroxy 5 cyclohexano 1,2,3,4 tetron. Su apariencia física es un polvo color verde oscuro o marrón. Es soluble en agua (solución de color rojo-naranja, limpia); ligeramente soluble en solución de sosa, insoluble en alcohol. Las soluciones son inestables, se recomienda que las soluciones se preparen todos los días.

El Rodizonato de sodio sólido, la forma en la que el ácido rodizónico se suministra normalmente, se descompone lentamente. Esto parece ser lo suficientemente lento, (una vida media que se mide mejor en años) para no representar un grave problema, especialmente si las muestras se refrigeran y no se exponen a luz [la velocidad de la descomposición oxidativa del

rodizonato se sabe que puede mejorar tanto térmica como fotoquímicamente].

En solución acuosa, sin embargo, el problema es una descomposición más grave. El rango de la vida de una solución oxigenada a su pH natural, por el tiempo necesario para su absorbancia óptica para reducir a la mitad de su valor inicial, se puede ver a partir de su curva que es de aproximadamente 80 min, aumentando a 105 min si la solución se prepara en ausencia de oxígeno. La velocidad de descomposición se ha demostrado que disminuye con la disminución del pH. Debido a lo anterior la prueba de Rodizonato de sodio se lleva a cabo a pH 2,8, en vez de al pH naturalmente básico de una solución de rodizonato de sodio. Se observó que una mejor manera de manejar las soluciones de este reactivo sería disolver el rodizonato de sodio directamente en el tampón de tartrato, que es tradicionalmente usado para conseguir un pH 2,8 en la zona de prueba. Cuando se hace esto, el dianión rodizonato se convierte totalmente en protonado y pierde su color naranja. Lo que produce una vida media aproximada de la solución tamponada de 10 horas, lo que representa una mejora considerable. Como se observa la solución del reactivo preparado de esta manera es tan simple como efectiva para producir la respuesta deseada así como preparar las soluciones de reactivo y el tampón por separado, pero debido a su mayor longevidad, su uso debe facilitar la adquisición de resultados más reproducibles. ^(15,16,17,18)

Naturaleza del depósito de plomo.

Un depósito de descarga procedente de un arma de fuego puede contener dos formas químicamente distintas de plomo: (a) El plomo metálico, derivado de la transferencia de fricción inducida por el plomo de la bala a la superficie que está penetrando, y (b) de plomo ionizado, presente en la descarga gaseosa asociada a la combustión de la carga iniciadora o cebador. Este será sin duda significativo cuando el depósito se obtiene de una superficie que está cerca de la boca del cañón del arma en el momento del disparo, pero también se pueden encontrar alrededor de las penetraciones más distantes debido a la condensación de gases de descarga en la bala, mientras que aún se encuentra en el cañón, seguido por la posterior transferencia a la superficie penetrada.^(17,18)

APLICACIÓN DEL RODIZONATO DE SODIO COMO TÉCNICA HISTOQUÍMICA EN LA DETECCIÓN DE RESIDUOS DE PLOMO EN FRAGMENTOS DE TEJIDO.

De los diversos marcadores comúnmente utilizados para detectar residuos de disparo, el Rodizonato de sodio ha sido probado en los dos modelos de papel de filtro y en la piel para detectar partículas en depósito y, en base a la dispersión de partículas, por determinar la distancia de disparos. El Rodizonato de sodio en solución acuosa reacciona con muchos metales, en

particular, antimonio, bario, y plomo, los componentes comunes de los residuos dejados por una bala. La reacción produce depósitos de color que, dependiendo de las condiciones, pueden variar de rojo a marrón oscuro.

Desafortunadamente, el material postmortem a menudo se altera por la degradación que invalida los resultados obtenidos de procedimientos histopatológicos de tinción utilizados rutinariamente en el material fresco. Por lo anterior se desarrolló una técnica histoquímica con Rodizonato de sodio que conjuga la observación de las características histológicas de las heridas por proyectil de arma de fuego con la detección de los residuos del disparo, específicamente plomo. ^(19,20)

En 2006, investigadores italianos tomaron fragmentos de piel del orificio de entrada de heridas por proyectil de arma de fuego de seis cadáveres, que incluyeron tejido dañado y tejido macroscópicamente intacto. Todos los especímenes se fijaron en formol amortiguado al 10%, luego se incluyeron en bloques de parafina de acuerdo a los procedimientos de rutina. Después de ser cortados, se tiñeron con una solución de Rodizonato de sodio al 0.2%. Tras lo anterior, se observó que el Rodizonato de sodio tomó la forma de depósitos de partículas marrones, y la intensidad de la tinción parecía ser proporcional a la concentración de residuos de disparos. La tinción fue más intensa en las zonas donde la piel estaba más desgarrada, y donde las partículas fueron probablemente depositadas en cantidades mayores.

En la piel intacta, los depósitos se encontraron en su mayoría en el estrato córneo, en una distribución laminar, las partículas tomaron la forma de puntos finos y dispersos. Por el contrario, en las zonas donde el tejido fue lacerado, los depósitos de los residuos del disparo fueron evidentes a lo largo de los bordes de la piel rota, que era irregular y mostraron evidencia de extravasación de sangre reciente (eritrocitos con bordes citoplásmicos bien definidos).^(18,19,20)

Posteriormente en 2011, se describió esta misma técnica agregándole un nuevo paso, encaminado a maximizar la claridad de los resultados. El elemento que se adicionó fue el Ácido clorhídrico (HCl), las muestras se trataron con una solución de Rodizonato de sodio y una solución tampón con pH 2,8, seguido de una solución de HCl al 5%. La aplicación del ácido clorhídrico al tejido teñido previamente con el Rodizonato produjo un cambio de coloración de marrón a azul-violeta, esta reacción confirma la presencia de residuos del disparo, específicamente plomo.

Para fines de diagnóstico, la aplicación de las dos técnicas (Rodizonato de sodio y Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico) resultó ser extremadamente útil en la confirmación y demostración morfológica de la presencia de residuos de plomo. En un caso de lesión de corto alcance a la cabeza, se encontró una reacción positiva al plomo en el orificio de entrada y

en la duramadre. Por consiguiente, se considera una técnica útil de cribado, que en algunos casos puede ser definitivo y, en otras circunstancias podría confirmar la necesidad de proceder con métodos más precisos, pero también más costosos. ^(21,22,23)

JUSTIFICACIÓN

La importancia del presente proyecto de Investigación recae en la necesidad de contar con nuevas técnicas que den respuesta a antiguas preguntas. Una de las preguntas más frecuentes, se plantea cuando estamos ante un cadáver y necesitamos saber si la herida que estamos observando corresponde o no a una herida producida por un proyectil de arma de fuego. Como se mencionó con anterioridad el número de homicidios dolosos con arma de fuego en México aumentó en más del 25% en los últimos 10 años, lo que se refleja en un número cada vez mayor de autopsias por esta causa y en la necesidad de herramientas que auxilien al médico legista en su labor.

A lo largo de la historia de la Medicina Legal, el tema de las heridas por proyectil de arma de fuego ha sido ampliamente estudiado. Se han descrito las características y signos macroscópicos que frecuentemente se presentan en lesiones por este mecanismo, sin embargo, hay casos en las que éstas no son suficientes para integrar el diagnóstico de herida por proyectil de arma de fuego; en tal situación es necesario recurrir a técnicas auxiliares. Uno de los métodos más usados es la descripción de las alteraciones histológicas que produce el proyectil a su paso por los tejidos.

Los primeros estudios histológicos de las heridas por proyectil de arma de fuego fueron realizados por Okros en 1955, en cual describió una serie de

hallazgos que caracterizaban los orificios de entrada de las heridas por proyectiles de arma de fuego, determinados por la acción contusiva y perforante del proyectil sobre los diferentes tejidos afectados en su trayecto, sin embargo estos mismos pueden producirse por otros objetos que penetren la piel y tejidos, además de que se necesita de una amplia experiencia para poder observarlos y describirlos. Posteriormente varios autores describieron otra serie de hallazgos histológicos, que resultaron inconstantes, y dependen de diversos factores como la distancia del disparo y la vestimenta de la víctima. De igual manera se han desarrollado otras técnicas encaminadas a identificar elementos específicos del disparo, como la presencia de nitritos u otros residuos, si bien se han obtenido ciertos resultados, su costo, complejidad y baja sensibilidad han limitado su uso.

A la par se desarrollaron técnicas que permiten detectar los residuos de los disparos, como son la prueba de Walker en las prendas de vestir y la de Harrison en la piel íntegra de las manos, para complementar la investigación criminalística en las muertes por armas de fuego. Con la prueba de Harrison, desarrollada en 1959, se logró detectar plomo, bario y antimonio provenientes del propelente, carga iniciadora y bala, utilizando Rodizonato de Sodio y Trifenilarsonio, por medio de una reacción colorimétrica; probó ser una prueba útil, sencilla, rápida y relativamente económica.

Utilizando como base los fundamentos de la prueba de Harrison, investigadores italianos aplicaron el Rodizonato de Sodio y ácido clorhídrico para teñir muestras de piel y tejido tomados de heridas por proyectil de arma de fuego de cadáveres bien conservados, procesando el tejido con la técnica histológica convencional de parafina; lo que obtuvieron fue una tinción que reveló la presencia de plomo en los tejidos tratados. Lo anterior derivó en una técnica histoquímica de bajo costo y que no requiere mucho entrenamiento para la interpretación de sus resultados, ya que se basa en un cambio de coloración en las zonas donde se encuentran los residuos. Este método tiene el potencial de convertirse en una prueba auxiliar básica en la investigación de una muerte violenta, en la que existan dudas sobre la naturaleza de las lesiones que la produjeron; es ideal para lugares donde únicamente se cuente con un laboratorio de patología básico, como sucede en muchos estados de nuestro País. Por lo previamente expuesto, la presente investigación propone la descripción de la técnica histoquímica de Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico, como una técnica útil en la integración del diagnóstico de heridas por proyectil de arma de fuego.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al observar las estadísticas, es evidente que las muertes por armas de fuego son una realidad cada vez más frecuente y extendida en todo el país. Los médicos legistas necesitan de herramientas que los ayuden a discriminar entre una herida por proyectil de arma de fuego de una que no lo es, en los casos en los se tengan dudas acerca de la identidad de las primeras. Ya que un diagnóstico correcto de la causa de muerte es fundamental para que se lleve a cabo una investigación adecuada, y se tengan estadísticas confiables, se plantea lo siguiente: ¿Cuál es la utilidad de la técnica histoquímica de tinción con Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico en el diagnóstico de heridas producidas por proyectiles de arma fuego?

OBJETIVO GENERAL

Determinar la utilidad de la técnica histoquímica de Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico en el diagnóstico de heridas producidas por proyectil de arma de fuego, basada en la detección de residuos de plomo en heridas de entrada y salida por proyectil de arma de fuego, en muestras de piel enviadas al servicio de Patología Forense del Instituto de Ciencias Forenses del Distrito Federal entre el 1 de enero de 2010 y el 30 de abril de 2013.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir las características histológicas de las heridas por proyectil de arma de fuego.
2. Determinar si la herida corresponde a un orificio de entrada o de salida en base a las características histológicas descritas.
3. Determinar la presencia de residuos de plomo en muestras de piel de orificios de entrada y salida de heridas por proyectil de arma de fuego, enviadas al servicio de Patología Forense, utilizando la tinción con Rodizonato de Sodio y ácido clorhídrico.
4. Señalar si la intensidad de la tinción con Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico varía entre el orificio de entrada y el de salida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio: Descriptivo, transversal, ambispectivo.

Tamaño de muestra: 16 muestras de piel tomadas de heridas por proyectil de arma de fuego enviadas al servicio de Patología Forense del Instituto de Ciencias Forenses del Distrito Federal, durante el período del 01 de enero de 2010 al 30 de abril de 2013.

Criterios de Inclusión:

1. Muestras de piel tomadas de heridas por proyectil de arma de fuego enviadas al servicio de Patología Forense durante el período del 01 de enero de 2010 al 30 de abril de 2013, correctamente conservadas en bloques de parafina con tejido suficiente para realizar 3 cortes de 3 a 5 micras.
2. Muestras de piel que cuenten con los elementos de identificación suficientes para llenar la hoja de recolección de datos, anexo 1.

Clasificación de las variables según tipo, escala de medición y calificación.

<i>Variable</i>	<i>Tipo</i>	<i>Escala de medición</i>	<i>Calificación</i>
Tinción con Rodizonato de Sodio	Compleja	Cualitativa Nominal	Positivo Negativo
Tinción con Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico	Compleja	Cualitativa Nominal	Positivo Negativo
Intensidad de la tinción Rodizonato de sodio y de Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico	Compleja	Cualitativa Ordinal	Leve: + Moderado: ++ Intenso: +++
Características histológicas con Tinción Hematoxilina y eosina	Contexto	Cualitativa Nominal	Presente Ausente
Datos de identificación de la muestra: Números de muestra y expediente, edad, sexo, órgano o tejido enviado, antecedentes, causa de muerte y fecha de envío al Patología	Contexto	Cualitativa Nominal y Cuantitativa continua	Sexo: Hombre, Mujer. Edad: años cumplidos al momento del fallecimiento.

Definición operacional de las variables:

Tinción de Rodizonato de sodio: Técnica histoquímica en la que se utilizó el Rodizonato de Sodio como un indicador, por medio de una reacción colorimétrica que produce un color marrón, de la presencia de residuos de plomo en fragmentos de tejido, observado en el análisis microscópico.

Se aplicó a cortes longitudinales del fragmento de piel, a través del trayecto del proyectil.

Tinción de Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico: Técnica histoquímica en la que se utilizó el Rodizonato de Sodio como un indicador, por medio de una reacción colorimétrica, de la presencia de residuos de plomo en fragmentos de tejido, a la cual se agregó como paso adicional el uso de ácido clorhídrico para confirmar la presencia del plomo, mediante un cambio de color, del marrón que se obtuvo en la primera reacción a azul-violeta. Observado en el análisis microscópico.

Se aplicó a cortes longitudinales del fragmento de piel, a través del trayecto del proyectil.

Intensidad de la tinción Rodizonato de sodio y de Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico: Grado en el que se tiñe el tejido con la solución de Rodizonato de sodio y con la solución de Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico.

Características histológicas de las heridas por proyectil de arma de fuego con Tinción Hematoxilina y eosina: Técnica de tinción histológica se basa en la aplicación de la tinción de hematoxilina, que por ser catiónica o básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, como por ejemplo los núcleos celulares; y el uso de eosina que tiñe componentes básicos (acidófilos) en tonos de color rosa, gracias a su naturaleza aniónica o ácida, como el citoplasma.

Se aplicó a cortes longitudinales del fragmento de piel, a través del trayecto del proyectil.

Características histológicas del orificio de entrada: incrustación de granos de pólvora, hallazgo de fragmentos de epidermis dentro de la dermis, zonas de necrosis por coagulación, hemorragia, presencia de fibras textiles provenientes de la vestimenta.

Características histológicas del orificio de salida: presencia de fragmentos de hueso, músculo, u otros tejidos arrastrados por el proyectil durante su trayecto, zonas de necrosis por coagulación, y hemorragia.

MÉTODOS, TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

1. Se hizo una revisión del archivo electrónico de muestras conservadas en bloques de parafina, enviadas al servicio de Patología Forense del Instituto de Ciencias Forenses del Distrito Federal durante el período del 01 de enero de 2010 al 30 de abril de 2013.
2. Se seleccionaron las muestras de piel que cumplieron los criterios de inclusión y se realizaron tres cortes de 3 a 5 micras.
3. Los cortes obtenidos, se dividieron en 3 grupos: el grupo uno se tiñó con hematoxilina y eosina, según la técnica convencional; el grupo dos, con Rodizonato de sodio; y el grupo tres, con Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico.
4. Se describieron las características microscópicas observadas en la tinción con hematoxilina y eosina, para determinar si la muestra de

piel correspondía a una herida por proyectil de arma de fuego, y de ser así se definió si se trataba del orificio de entrada o de salida.

5. Para la tinción con Rodizonato de sodio se preparó la solución disolviendo 0.3 gr de Rodizonato de sodio en 100 ml de agua destilada; y también se preparó una solución de ácido tartárico L 99.5% 1 gr en 100 ml de agua destilada. La solución de Rodizonato de sodio se preparó 1 o 2 horas antes de ser utilizada.
6. Una vez preparadas las soluciones, el tejido colocado en portaobjetos se humedeció con una solución que consiste en 5 gotas de la solución de Rodizonato de sodio y una gota de ácido tartárico hasta que estuvieron completamente cubiertos. El tiempo de reacción fue de 1 minuto.
7. Los cortes fueron enjuagados con agua destilada hasta que el color marrón de fondo desapareció. En este punto, la primera reacción del Rodizonato de sodio fue revelada presentando un color café remanente. Los cortes fueron secados y montados. La reacción se consideró positiva cuando el tejido adquirió un color marrón en las zonas de depósito del plomo, esto observado bajo el microscopio.
8. Para el tratamiento con Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico, los cortes previamente teñidos con Rodizonato fueron lavados con agua destilada, sumergidos en ácido clorhídrico al 5% por 30 a 60 segundos, y secados con una secadora de cabello a 60 grados centígrados. Entonces se aclararon con Xilol y montaron de manera

normal. Esta prueba se consideró positiva cuando el color marrón observado en la prueba anterior se tornó azul/violeta, confirmando la presencia de residuos de plomo.

Todos los resultados de las tinciones así como las características histológicas descritas en la tinción con hematoxilina y eosina fueron registrados en la hoja de recolección de datos. (Anexo 1)

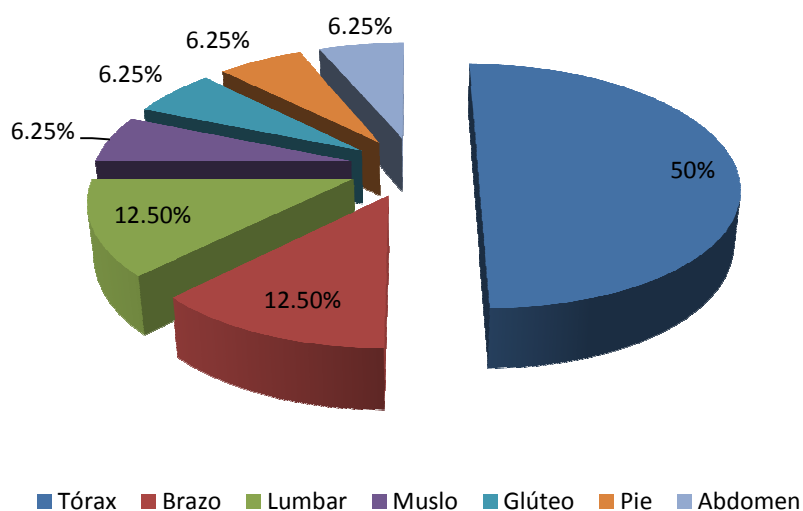
Una vez completado el procesamiento de los tejidos y el registro de los datos obtenidos, se procedió a la elaboración de la base de datos correspondiente en el programa Excel 2007, con la cual se obtuvieron frecuencias, promedios y porcentajes.

RESULTADOS

Se obtuvieron 16 bloques de parafina con muestras adecuadas y suficientes. Del total de las muestras seis fueron enviadas en el año 2010, cinco durante el año 2011, cuatro en el año 2012 y una en el 2013.

Doce de las muestras, es decir el 75%, fueron tomadas de cadáveres del sexo masculino y cuatro (25%) de cadáveres del sexo femenino. Las edades al momento del fallecimiento oscilaron entre los 14 a 55 años, con un promedio de 39 años.

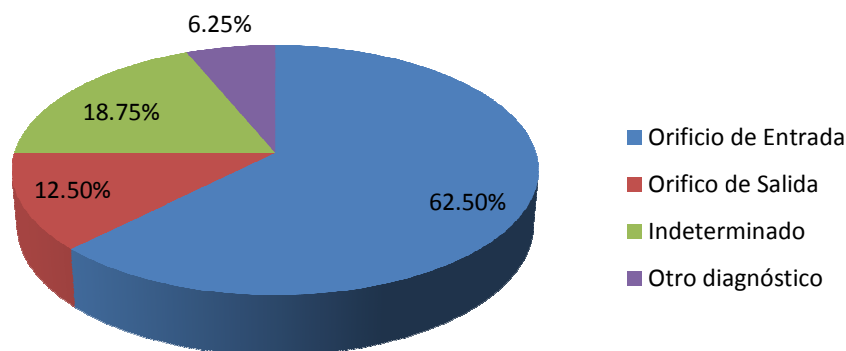
Los antecedentes referidos fueron las regiones anatómicas de las cuales se extrajeron las muestras de piel. Gráfica 1



Gráfica 1 Regiones anatómicas de las que fueron tomadas las muestras de piel.

Se realizaron tres cortes de tres a cinco micras por cada bloque de parafina obteniendo un total de 48 laminillas, 16 se tiñeron con hematoxilina y eosina, 16 con solución de Rodizonato de sodio, y 16 con solución de Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico.

Una vez realizado el análisis de las características microscópicas con la tinción de hematoxilina y eosina se determinó que 14 eran compatibles con heridas producidas por un proyectil disparado por arma de fuego, en uno no fue posible determinarlo ya que presentaba datos de autolisis y una de las muestras se diagnosticó como tejido cicatrizal que no correspondía a una herida por proyectil de arma de fuego. De las lesiones por arma de fuego, se realizó la diferenciación entre orificio de entrada y salida. Gráfica 2



Gráfica 2 Orificios de entrada y salida tras el análisis con la tinción de Hematoxilina y Eosina.

Con respecto a las diez muestras correspondientes a orificios de entrada, se encontró que el total de éstas presentó necrosis por coagulación en el trayecto del proyectil, en nueve se observó pigmento oscuro compatible con granos de pólvora en la epidermis y dermis; siete presentaron hemorragia; en cinco se identificaron fragmentos de tejido óseo en el trayecto, y en tres se encontraron fragmentos de la epidermis dentro de la dermis. Imagen 1

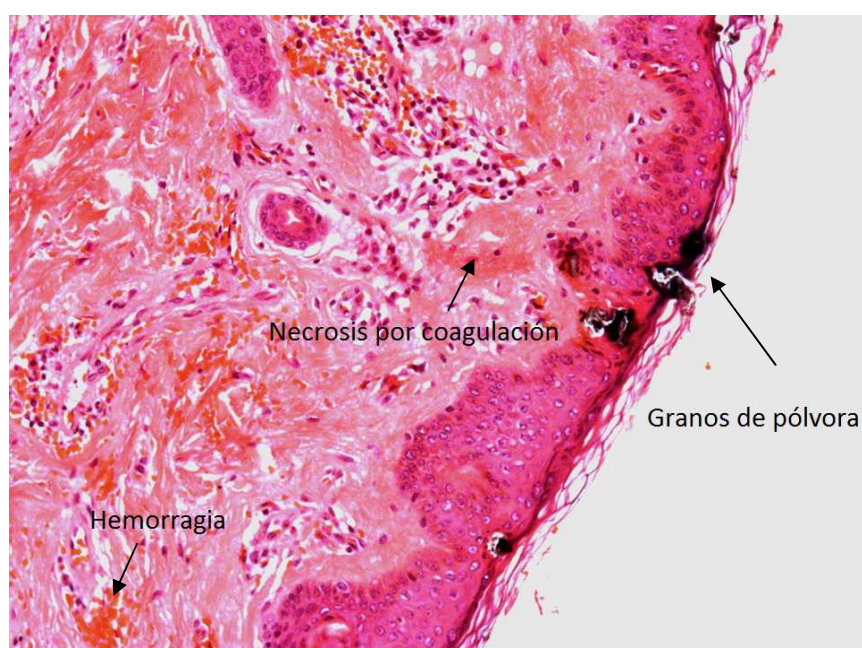


Imagen 1 Orificio de entrada de una herida por proyectil de arma de fuego con tinción de Hematoxilina y Eosina (20X)

En cuanto a las muestras diagnosticadas como orificios de salida, en las dos se identificó necrosis por coagulación, en una se observó hemorragia y en una fragmentos de tejido óseo. En los tres especímenes en los que no fue

posible realizar un diagnóstico, dos de ellos presentaron únicamente necrosis por coagulación.

Los resultados obtenidos con la tinción de Rodizonato de sodio fueron los siguientes: once (68.8 %) muestras fueron positivas y cinco (31.2%) negativas. Con la aplicación de la tinción confirmatoria con ácido clorhídrico se obtuvieron nueve (56.3%) resultados positivos, cinco (31.2%) negativos y 2 (12.5%) no concluyentes. Imagen 2

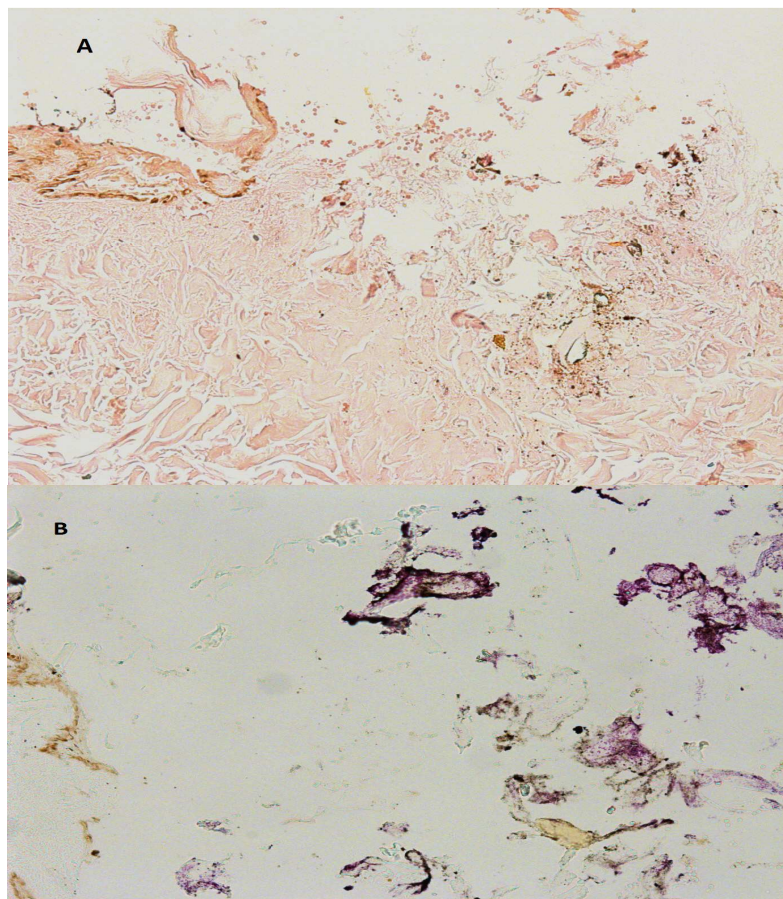
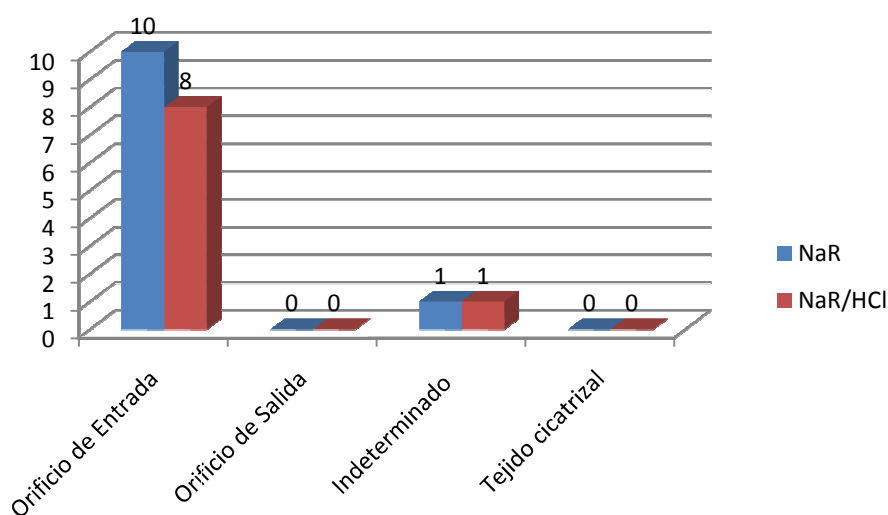


Imagen 2 A- Residuos de plomo de color marrón en la superficie del orificio de entrada (Rodizonato de sodio) B- Confirmación de los residuos de plomo con el cambio de coloración a violeta tras la aplicación de ácido clorhídrico. 20x

Los resultados positivos de la tinción de Rodizonato de sodio y Rodizonato de sodio más ácido clorhídrico en las heridas definidas como orificio de entrada y salida, así como en las muestras indeterminadas se observan en la gráfica 3.



Gráfica 3 Resultados positivos de la tinción con Rodizonato de Sodio (NaR) y Rodizonato de Sodio más Ácido Clorhídrico (NaR/HCl)

De las diez muestras con diagnóstico de orificio de entrada con la tinción de hematoxilina y eosina, ocho fueron positivas a residuos de plomo con la tinción de Rodizonato de sodio y con la tinción confirmatoria con ácido clorhídrico; dos fueron positivas únicamente a la tinción con Rodizonato de

sodio, la tinción confirmatoria con ácido clorhídrico no fue concluyente, debido a que no se obtuvo el cambio de coloración esperado.

En el caso de las dos muestras correspondientes con orificios de salida según la tinción con hematoxilina y eosina, ambas resultaron negativas a residuos de plomo, tanto para la reacción con Rodizonato de sodio como para el ácido clorhídrico.

Las dos muestras en las que no fue posible determinar si se trataba de un orificio de entrada o salida con hematoxilina y eosina, fueron negativas para ambas tinciones. La muestra con datos de autolisis resultó positiva para ambas reacciones revelando residuos de plomo en el tejido, lo que se correlaciona con una herida producida por un proyectil de arma de fuego. Con respecto a la muestra diagnosticada como tejido cicatrizal con hematoxilina y eosina, no se encontraron residuos de plomo toda vez, que resultó negativa en ambas tinciones.

No fue posible comparar la intensidad de la tinción de Rodizonato de sodio y Rodizonato de sodio con ácido clorhídrico entre los orificios de entrada y los orificios de salida, debido a que los últimos resultaron negativos, es decir no existió un cambio en la coloración en el tejido.

DISCUSIÓN

Las heridas por proyectiles de arma de fuego plantean muchas interrogantes a los peritos médicos al momento de realizar la necropsia, ya que es preciso determinar con precisión, en primera instancia, si las lesiones observadas corresponden al mecanismo mencionado y de ser así, se debe referir cuál es el orificio de entrada del proyectil y de existir, cuál el de salida. El laboratorio de Patología Forense juega un papel relevante cuando las características macroscópicas de las heridas se ven alteradas y no permiten realizar tales aseveraciones.

Actualmente en nuestro País, el método empleado para el análisis histopatológico de las lesiones por proyectil de arma de fuego es la tinción con hematoxilina y eosina. Se encontraron varias características comunes a las heridas de entrada y salida, como la necrosis por coagulación, la cual se produce por la fricción y el calor que produce el proyectil a su paso por los tejidos. Otra característica común fue la hemorragia, debida a la ruptura de los vasos sanguíneos. Entre las características específicas de la lesiones de entrada se observaron pigmentos oscuros compatibles con granos de pólvora incrustados en la epidermis y la dermis, ésta característica se considera como una de las más significativas para poder determinar si la lesión corresponde a una entrada o una salida y ha sido descrita reiteradamente por autores como Gisbert Calabuig y Bonnet. Asimismo, se

encontraron fragmentos de epidermis dentro de la dermis, otro hallazgo definitorio de una lesión de entrada. ^(4,11)

Debido a que no se han encontrado características histológicas específicas para los orificios de salida, en muchas ocasiones su diagnóstico se dificulta. Una de las que se considera con mayor valor es la presencia, en el trayecto, de restos de tejidos arrastrados por el proyectil en su recorrido a través de los diferentes órganos, sin embargo, en muchas ocasiones no es posible observar dichos fragmentos y el diagnóstico se realiza por exclusión. Lo anterior, se vio reflejado en el presente estudio, ya que el diagnóstico de las heridas señaladas como de salida en la tinción de hematoxilina y eosina se realizó de esta manera.

Cabe señalar que en algunas de las muestras referidas como orificio de entrada por poseer granos de pólvora y fragmentos de epidermis en la dermis, se observaron fragmentos de tejido óseo en el trayecto del proyectil, hecho observado sólo en una de las muestras definida como orificio de salida. Este hallazgo en las heridas de entrada, se puede explicar por la cercanía de la piel con el plano óseo que presentan las regiones anatómicas de donde fueron tomados los fragmentos de tejido (tórax, dorso del pie y cresta ilíaca), lo que condicionó que al momento del impacto, el proyectil fracture el hueso y las esquirlas óseas se incrusten en los tejidos adyacentes.

Los resultados obtenidos con la técnica de Rodizonato de sodio fueron similares a los observados por Zoja-Batissini (2011). Todas las muestras correspondientes a heridas de entrada fueron positivas a residuos de plomo, observados como una coloración marrón en los sitios de depósito, concentrados en la solución de continuidad de la epidermis, dermis y tejido celular subcutáneo.

Con respecto a la prueba confirmatoria con ácido clorhídrico, ocho de las diez muestras resultaron positivas, revelando un cambio en la coloración marrón, la cual se tornó azul/violeta como lo describen Zoja-Batissini (2011), con lo que se corrobora la presencia de plomo en el trayecto del proyectil. Únicamente en dos casos, no se observó el cambio, ya que permanecieron con el color marrón oscuro, esta falta de reacción puede deberse al uso de formol en altas concentraciones o bien, a que el tejido permaneció en la solución de formol durante un periodo de tiempo prolongado antes de su inclusión en parafina, toda vez que al tratarse de una reacción dependiente del pH éstos factores pueden alterarla. Otra posible explicación, es la aportada por Zoja (2006), un agotamiento de los residuos durante el procesamiento del tejido previo a la tinción.

La muestra en la que no fue posible definir si se trataba de una herida por proyectil de arma de fuego, debido a que se encontraron datos de autólisis

con la tinción de hematoxilina y eosina, resultó positiva para la tinción de Rodizonato de sodio y también para la tinción confirmatoria con ácido clorhídrico, lo que es compatible con presencia de residuos de plomo en el tejido y con lo que se puede inferir que se trata de una lesión de entrada por proyectil de arma de fuego.

Los especímenes definidos como orificios de salida por la tinción de hematoxilina y eosina fueron negativos para ambas reacciones, así como las dos muestras que únicamente presentaban necrosis por coagulación. Con lo que podemos inferir que éstas últimas corresponden heridas de salida del proyectil. Los residuos de plomo son escasos o inexistentes en el orificio de salida del proyectil, debido a que éste es enjugado en su recorrido por los diferentes tejidos y órganos del cuerpo de la víctima, lo que condiciona que al salir los únicos residuos que se pudieran impregnar son los provenientes del propio proyectil, en el caso de que éste no estuviera cubierto por una camisa de cobre.

Por último, la muestra de tejido cicatrizal fue negativa tanto para Rodizonato como para el ácido clorhídrico, confirmando que los cambios de coloración observados en las pruebas positivas se debieron, efectivamente, a los depósitos de residuos de plomo provenientes de los elementos del disparo como son el fulminante, el ánima del arma, la pólvora y el propio proyectil.

CONCLUSIONES

1. La técnica histoquímica con Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico demostró ser un método útil en el diagnóstico de las heridas por proyectil de arma de fuego, toda vez que aporta elementos que complementan el análisis histológico clásico con la tinción de hematoxilina y eosina, al revelar un componente constante de los residuos del disparo, el plomo, permitiendo una mayor certeza en el diagnóstico, en especial, en casos en los que no se encuentran características microscópicas suficientes que permitan definir la lesión de forma inequívoca.
2. De igual manera, una vez realizado el diagnóstico de herida por proyectil de arma de fuego, permite hacer la diferenciación entre los orificios de entrada, en los cuales existen residuos de plomo y los orificios de salida en los que no se encuentran dichos residuos o la cantidad es muy reducida.
3. No fue posible hacer la comparativa entre la intensidad de la reacción de Rodizonato de sodio y ácido clorhídrico entre los orificios de entrada y salida, debido a que todas las muestras de lesiones de salida fueron negativas para la reacción.
4. Al tratarse de una prueba colorimétrica es fácil de interpretar y no requiere de un alto grado de especialización para llevarla a cabo, lo que permitiría su instrumentación en lugares que cuenten con un laboratorio básico de Patología.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Mortalidad, conjunto de datos: defunciones por homicidios. [fecha de consulta: 01 enero 2013] Disponible en:
<http://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/proyectos/bd/continuas/mortalidad/defuncioneshom.asp>
2. Incidencia delictiva del fuero común 2011. Secretariado Ejecutivo del Sistema Nacional de Seguridad Pública. [fecha de consulta: 01 enero 2013] Disponible en:
http://www.secretariadoejecutivosnsp.gob.mx/work/models/SecretariadoEjecutivo/Resource/131/1/images/CIEISP2011_30Agosto2012.pdf
3. Incidencia delictiva del fuero común 2012. Secretariado Ejecutivo del Sistema Nacional de Seguridad Pública. [fecha de consulta: 01 enero 2013] Disponible en:
http://www.secretariadoejecutivosnsp.gob.mx/work/models/SecretariadoEjecutivo/Resource/131/1/images/CIEISP2012_201212.pdf
4. Gisbert Calabuig J. Medicina Legal y Toxicología. Editor Villanueva E. 6ª ed. Barcelona: Masson, 2004.
5. Smyth Wallace J. Chemical analysis of firearms, ammunitions and gunshot residue. Boca Ratón: CRC Press Taylor & Francis Group, 2008.
6. Thornton J.I. The chemistry of death by gunshot. Anal Chim Acta 1994, 288: 71-81.
7. Di Maio V. Gunshot Wounds, Practical aspects of firearms, ballistics and forensic techniques. 2ª ed. Boca Ratón, FL: CRC Press, 1999.
8. Heard B. Handbook of Firearms and Ballistics, Examining and Interpreting Forensic Evidence. 2ª ed. Oxford: Wiley & Sons Ltd, 2008.
9. Petraco N, Yander M, Sardone J. A method for the quantitative determination of nitrites in gunshot residue cases. Forensic Science International 1981; 18:85-92.
10. Walker JT. Bullet holes and chemical residues in shooting cases. Journal of criminal law and criminology including The American Journal of Police Science 1940; 31: 497-521.
11. Bonnet L. Medicina Legal. 2ª ed. Buenos Aires: López Libreros Editores, 1980.
12. Harrison HC, Gilroy R. Firearms discharge residues. J Forensic Sci 1959; 4:184-99.
13. Dillon JH. The sodium rhodizonate test: a chemically specific chromophoric test for lead in gunshot residue. AFTE J 1990; 22 (3): 251-56.
14. Moreno González R. Balística forense. 15ª ed. México: Editorial Porrúa, 2011.
15. Romolo FS, Margot P. Identification of gunshot residue: a critical review. Forensic Science International 2001; 119: 195-211.

16. Bartsch MR, Kobus HJ, Wainwright KP. An update on the use of the sodium rhodizonate test for the detection of lead originating from firearm discharges. *J Forensic Sci* 1996;41(6): 1046-1051.
17. Zhao B, Back, MH. The photochemistry of the rhodizonate dianion in aqueous solution. *Can J Chem* 1991;69:528-32.
18. Gelb RI, Schwartz LM, Laufer DA. The structure of aqueous rhodizonic acid. *J Phys Chem* 1978;82(18):1985-8.
19. Chaplin AJ, Turner ELT. Observations on the histochemistry of barium. *Histochemistry* 1983; 79: 111-116.
20. Zoja R, Lazzaro A, Battistini A, Gentile G. Detection of gunshot residues on cadaveric skin using sodium rhodizonate and a counterstain. *Biotechnic & Histochemistry* 2006; 81(4-6): 151-156.
21. Shelley WB. Sodium rhodizonate staining of the keratinous zone of the hair follicle and lingual papilla. *Histochemie* 1970; 22: 169-176.
22. Owens M, George W. Gunshot residue examinations: modification in the application of the sequence of chemical tests. *AFTE J* 1991; 23(4): 63-5.
23. Andreola S, Gentile G, Battistini A, Cattaneo C, Zoja R. Forensic applications of sodium rhodizonate and hydrochloric acid: A New histological technique for detection of gunshot residues. *J Forensic Sci* 2011; 56 (3): 771-74.

ANEXO 1

FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Titulo de la Investigación: Utilidad de la técnica histoquímica con Rodizonato de Sodio y ácido clorhídrico en el diagnóstico de heridas producidas por proyectil de arma de fuego.

Responsables: Dra. Diana Carolina Balam Xool, Residente de Medicina Legal. Dr. Fernando García Dolores, Perito Patólogo.

Datos de identificación de la muestra:

Fecha de envío de la muestra: Número de Muestra:

Sexo: Edad:

Número de expediente:

Tejido enviado:

Antecedentes:

Causa de muerte:

Características histológicas con tinción de hematoxilina y eosina:

Incrustación de granos de pólvora: presente () ausente ()

Fragmentos de epidermis dentro de la dermis: presente () ausente ()

Zonas de necrosis por coagulación: presente () ausente ()

Hemorragia: presente () ausente ()

Fibras textiles en el trayecto: presente () ausente ()

Fragmentos de hueso, músculo, u otro tejido en el trayecto: presente ()

ausente (), especificar el tipo de tejido encontrado:

Otros hallazgos:

Según las características histológicas corresponde a: orificio de entrada ()

orificio de salida: ()

Tinción Rodizonato de sodio:

Orificio de entrada: Positiva Negativa

Orificio de salida: Positiva Negativa

Intensidad de la tinción:

Tinción Rodizonato de sodio/ácido clorhídrico:

Orificio de entrada: Positivo Negativo

Orificio de salida: Positivo Negativo.

Intensidad de la tinción: