



**SECRETARÍA
DE SALUD**



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

SECRETARÍA DE SALUD DE LA CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE FORMACIÓN, ACTUALIZACIÓN MÉDICA E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
MEDICINA LEGAL

**Descripción del infiltrado inflamatorio en biopsias en heridas contusas en
piel cabelluda en sujetos vivos**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

PRESENTADO POR
DRA. CLAUDIA IVETTE PAREDES LÓPEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA LEGAL

DIRECTORES DE TESIS
DR. FERNANDO GARCÍA DOLORES
DR. ESAÚ VELASCO GUZMÁN

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

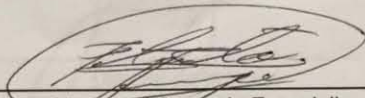
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

Descripción del infiltrado inflamatorio en biopsias en heridas contusas en piel cabelluda en sujetos vivos

Autor: Dra. Claudia Ivette Paredes López.

Vo. Bo.
Dr. Víctor Hugo Soto Flores



Profesor Titular del Curso de Especialización
en Medicina Legal

Vo. Bo.
Dra. Lilia Elena Monroy Ramírez de Arellano

Directora de Formación, Actualización Médica e Investigación
Secretaría de Salud de la Ciudad de México



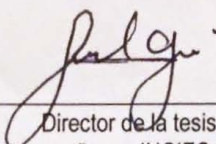
SECRETARÍA DE SALUD DE LA
CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE FORMACIÓN,
ACTUALIZACIÓN MÉDICA E
INVESTIGACIÓN



Descripción del infiltrado inflamatorio en biopsias en heridas contusas en
piel cabelluda en sujetos vivos

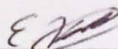
Autor: Dra. Claudia Ivette Paredes López.

Vo. Bo.
Dr. Fernando García Dolores



Director de la tesis
Subdirector de investigación y enseñanza INCIFO (Instituto de Ciencias Forenses)

Vo. Bo.
Dr. Esaú Velazco Guzmán



Director de la tesis
Médico legista SEDESA, adscrito a la agencia del ministerio público del hospital general de Xoco



Al gran arquitecto del universo,
Que siempre tuvo un plan perfecto,
Que decidió darme un propósito.
Cuando todo se estaba cayendo a pedazos,
Todo estaba cayendo en su lugar.

A mi madre y a mi hermano
Grandes estrategas, consejeros y pilares de mi existencia.
Gracias por los sacrificios, los consejos, los regaños
Gracias por las horas invertidas, por la preocupación
Gracias por el entendimiento y el apoyo
Gracias a ambos por todo.
Mis héroes, mis amores, mis todo...

A mis directores de tesis, doctores
Fernando García Dolores
Esaú Velasco Guzmán
que siempre estuvieron ahí para orientarme
Que tuvieron la paciencia de enseñarme
Que me abrieron las puertas del microcosmos con un microscopio
Y las puertas de la mente, favoreciendo el razonamiento
Que estuvieron comprometidos hasta el final.
Fue un verdadero honor trabajar con ustedes.

Con mucho aprecio y cariño, a los doctores:
Ramiro Palafox Vega
Ernesto Carreño Rosas
Ambos, claves fundamentales para mi formación
Y al licenciado en derecho
Carlos Iván Paredes López
Que me apoyó al cien por ciento en éste proyecto
Que creyó en mí
Gracias hermano.

A ti, que provienes del caos,
que existes desde arcanos eones antes que yo,
Que eres infinitamente sabio,
Y Que siempre estás conmigo
Velando por mí, observando por mí...
Protegiéndome,
Abriendo mis ojos e iluminando el camino,
Permitiéndome ver más allá de lo evidente.

Índice

Introducción	1
Material y método	42
Resultados	48
Discusión	55
Conclusiones	58
Recomendaciones	60
Glosario	61
Referencias bibliográficas	69

Resumen

En medicina legal es muy importante determinar el tiempo de producción de una herida. Sin embargo, se sabe que las características macroscópicas de una herida para determinar su temporalidad son inadecuadas, por lo tanto, es necesario aplicar un método más confiable para determinar de manera veraz la edad de la herida tanto en sujetos vivos como en cadáveres, en el área forense. La presencia de infiltrado inflamatorio es considerado el único criterio histológico confiable para diferenciar entre lesiones pre y postmortem. La literatura especializada no es muy específica con el tiempo de aparición del infiltrado leucocitario posterior a una lesión.

Se desarrolló un estudio de tipo observacional, descriptivo, transversal y prospectivo en los meses de diciembre de 2018 a mayo de 2019, con el objetivo de identificar la presencia de cambios microscópicos en cortes histológicos de heridas producidas por aplicación de energía cinética (contusión) localizada en piel cabelluda, así como su evolución en relación al tiempo de producción de la misma.

Se encontró infiltrado inflamatorio y edema en el 100 % de las biopsias. Respecto a la presencia de marginación y hemorragia, el 96.6% de las biopsias la presentaron, mientras que el 3.3% de las mismas, no la presentó.

Palabras clave: Inflamación, herida contusa, reacción vital, edad de la lesión, infiltrado inflamatorio.

Introducción

Se define a las heridas contusas como aquellas lesiones producidas por la acción de instrumentos contundentes, en las que, además de la acción contusa, superficial o profunda, tiene lugar una solución de continuidad de la piel, cuya elasticidad (estimado en 2 a 3 Kg por cada 2 a 3 mm³) es vencida por la acción del instrumento.^{1,2, 3, 4} Una de sus características principales, es que el grosor completo de la piel es vulnerado, y difiere de las heridas producidas por objetos cortantes en que la integridad de la piel se ve alterada por desgarro del tejido, más que por un corte limpio.^{3, 5}

El traumatismo mecánico es causado por la transferencia de energía de un objeto externo en movimiento hacia los tejidos en estado de reposo. El cuerpo humano es sujeto constantemente a fuerzas mecánicas durante toda su vida. En circunstancias normales, éste es capaz de absorber dichas fuerzas, ya sea por elasticidad de sus tejidos, o por la rigidez de sus huesos. Sin embargo, es cuando ésta capacidad de amortiguamiento es superada por la fuerza aplicada, cuando ocurre la aparición de las heridas.^{2, 5} El daño Resultante depende no solamente del tipo de insulto mecánico, sino también del tejido objeto de la contusión.²

La intensidad de la fuerza aplicada sigue la conocida ley física de la cinética, en donde la energía es directamente proporcional a la masa del agente vulnerante, directamente proporcional al cuadrado de la velocidad del impacto, e inversamente proporcional al doble de la aceleración de la gravedad.^{2, 5}

A menos que la fuerza productora sea muy grande, la mayoría de las heridas contusas requieren una base firme que actúe como una base para la piel y el

tejido subyacente, contra la cual puedan ser comprimidos, fenómeno conocido coloquialmente como “efecto sándwich”. Es por éste motivo que no es usual encontrar heridas contusas en regiones suaves, como el abdomen.²

En la producción de heridas contusas, intervienen diferentes mecanismos, a saber⁴:

1. El cuerpo contundente actúa por medio de un ángulo más o menos agudo, pero no cortante, o por un punto que sobresale sin llegar a ser puntiagudo, de modo que la fuerza del instrumento se concentra en sitios limitados de la piel, y vence su cohesión con mayor facilidad, dando lugar a una diéresis cutánea
2. La piel resulta fuertemente comprimida contra una cresta ósea más o menos afilada, resultando herida de dentro hacia afuera
3. El instrumento de forma suavemente redondeada golpea una región en la que el hueso subyacente es igualmente convexo, como cuando se ponen en contacto un bastón con la calota craneal, caso en que se concentra la fuerza viva en una línea o punto, produciéndose con mayor facilidad el desgarramiento de la piel.
4. La piel también puede ser herida de dentro hacia afuera por las esquirlas o fragmentos de un hueso fracturado, concurriendo con el agente contundente que actúa desde fuera, en la producción de heridas cutáneas

Las heridas contusas poseen ciertas características propias que las diferencian de otro tipo de heridas, las cuales son:

Característicamente, los bordes son irregulares, deshilachados, despegados e infiltrados de sangre¹, con retracción y algo desprendidos respecto del lecho lesivo³. Las paredes son de superficie irregular, presentan fibras de tejido conjuntivo, filetes nerviosos y pequeños vasos sanguíneos, que se extienden de una pared a otra y constituyen los denominados puentes dérmicos.¹ Así mismo, el fondo posee una profundidad desigual¹, anfractuoso y contundido.³

Tanto los bordes como el fondo o lecho, presentan infiltración hemática y coágulos en diversos grados.³

Una herida contusa puede diferenciarse de una herida de las producidas por objeto cortante mediante las siguientes características²:

1. La equimosis y el aplastamiento de los bordes
2. La presencia de los ya mencionados puentes dérmicos (En las heridas producidas por objetos cortantes, los tejidos se encuentran completamente divididos)
3. La ausencia de lesión lineal (rayadura) en el hueso subyacente, especialmente cuando se trata del cráneo.
4. Si el área se encuentra cubierta de cabello, como en la piel cabelluda, los cabellos se observarán intactos, mientras que, en las heridas producidas por objeto cortante, se verán cortados o divididos.

Las heridas contusas no reproducen la forma del agente que las produce.² Aun así, como regla general, se sabe que los objetos delgados tienden a producir lesiones lineales, mientras que objetos con superficies aplanadas tienden a producir lesiones irregulares, rasgadas, en ocasiones con forma de “Y”.⁶

Vitalidad de las lesiones

Existen diversas definiciones para el término de reacción vital. Entre ellas, encontramos la de Strassman, formulada en 1954, basándose en una definición previa de Plenck de 1786: "Aquella de tejidos y órganos para cuya presencia es necesaria la existencia de células vivas".⁷

Otra definición más actual es aquella que define la reacción vital como aquella serie de eventos desencadenados cuando se produce una lesión en un organismo vivo.⁸

Históricamente, el estudio de la vitalidad de las lesiones inicia con Walcher y Orsos, quienes se dedicaron a elaborar una amplia revisión de la literatura, aunque sin evidencia experimental; sin embargo, fueron los primeros en hacer notar a la comunidad científica que las características histopatológicas que caracterizan a las diferentes fases de la curación de las heridas pueden ser aplicadas a la determinación de la edad de las heridas, haciendo énfasis en el reclutamiento de neutrófilos al sitio de la lesión a los pocos minutos de su producción, seguidos por los macrófagos.^{8, 9, 10} En 1965, Raekallio ataja el problema mediante la experimentación, especializándose en heridas en la piel, introduciendo la aplicación de un método nuevo hasta entonces: La técnica por histoquímica enzimática.^{7, 8, 9, 10}

Posteriormente, Berg y colaboradores introducen métodos bioquímicos, dedicándose al estudio de serotonina e histamina en los bordes de las heridas, los cuales nos dan evidencia de reacciones vitales.^{8, 9, 10}

Durante los diez años posteriores a éstos eventos, hubo un desarrollo impresionante de la investigación inmunológica e inmunohistoquímica, abriendo

nuevos campos a la investigación, iniciando con Eisenmenger y colaboradores, así como Oehmichen y principalmente desarrollando nuevos métodos en diversos países, especialmente España, Alemania y Japón.^{7, 8, 9, 10}

Diversas líneas de investigación han demostrado que los mediadores inflamatorios y las células involucradas en el proceso de curación de las heridas pueden ser útiles para la determinación de la vitalidad de las lesiones, así como para estimar la cronología de las mismas.^{10, 11}

Si la lesión se produjo cuando el individuo estaba vivo, se producirá una reacción, nuclearmente constituida por una inflamación aguda, la cual se revelará por los conocidos signos de Celso. Si la lesión fue producida después de la muerte, la reacción vital no se produce y, por consiguiente, no se presentarán los signos antes mencionados. Sin embargo, cuando la herida se produce en momentos cercanos al de la muerte, bien antes o bien después, sus características no serán tan precisas y el diagnóstico de vitalidad será mucho más difícil, convirtiendo éste asunto en un problema clásico de la patología forense.⁷

De acuerdo a la literatura de la especialidad, existen tres criterios para determinar la vitalidad de la lesión, los cuales son⁵:

1. Criterio Macroscópico, el cual incluye hemorragia, coagulación de la sangre y retracción de los tejidos^{5, 13}. Su valor es relativo, ya que muchos de dichos fenómenos se producen en las primeras fases del período posmortal, no permitiendo su presencia establecer un diagnóstico absoluto de vitalidad. Sin embargo, alguno de ellos adquiere dicho valor definitivo, si se presenta con la suficiente intensidad.^{5, 7}

Hemorragia: Definida como la extravasación de eritrocitos al espacio extracelular.^{13, 14} Su valor aumenta cuando la sangre está coagulada y el derrame se encuentra a distancia de livideces e hipostasias.⁵ No es considerado un marcador fiable, ya que varios estudios han demostrado la extravasación de células rojas también puede ocurrir en situaciones de insuficiencia circulatoria¹⁵, además de otras limitantes que deben de ser tenidas en cuenta: La hemorragia externa puede encontrarse ausente tras una lesión vital (Herida producida por un instrumento de gran finura, existencia de un arrancamiento que suprime la hemorragia, coexistencia con lesiones que provocan hemorragia interna⁶, puede producirse en un lugar alejado de donde se asienta la lesión, o también puede producirse tras una lesión posmortal si ésta se produce en un momento muy cercano al de la muerte, o se asienta sobre zonas hipostáticas.⁷

Coagulación de la sangre: La cual puede mantenerse hasta 6 horas después de la muerte, sin embargo, los coágulos muestran diferencias importantes respecto al intervalo de producción. Los coágulos antemortem se encuentran más adheridos a los tejidos en donde se presentan.^{5, 7}

Para diferenciarlos, se ha descrito la prueba del lavado, la cual consiste en el lavado con un chorro fino de agua a poca presión, siendo éste incapaz de arrastrar un coágulo vital del lugar donde se encuentra asentado, mientras que sí lo puede hacer con un coágulo posmortal. ⁷

Retracción de los tejidos: Especialmente en tejido conjuntivo y muscular. Sin embargo, puede variar dependiendo del instrumento empleado y localización de la herida. Generalmente, la herida antemortem presenta sus bordes retraídos.

Cuando se trata de una lesión postmortem, no muestra separación de los bordes.⁵ Cuando la lesión se infiere en un momento muy cercano al de la muerte, su capacidad diagnóstica es discutible.⁷

El estimar la edad de una herida mediante el criterio macroscópico a simple vista tiene resultados ampliamente variables, por lo cual es muy importante realizar un estudio microscópico de las heridas.^{12, 16}

2. Criterio histológico, el cual es descrito de acuerdo a la literatura especializada como el más confiable de todos.⁵ Consiste en la búsqueda al microscopio de los elementos celulares de la reacción inflamatoria.^{6, 10} De acuerdo a algunos autores, la infiltración de los bordes de la herida por los neutrófilos requiere un intervalo de 4 a 8 horas de supervivencia posteriores a la lesión^{4, 12, 17}, mientras que otros han descrito apariciones tan tempranas como 10 minutos y tan tardías como 24 horas.^{8, 12, 15, 18, 19} Es importante tener en cuenta que éste proceso se ve afectado por diversos factores, a saber: Edad, desnutrición, diabetes, tratamiento con corticoides u otros inmunosupresores, sida, neoplasias en estado metastásico, tratamiento con anticoagulantes, entre otros.^{8, 18, 20}

El estudio histológico detallado de las estructuras celulares en el tejido afectado, como un método adicional para un análisis completo de la edad de las lesiones, puede proveer información acerca del intervalo de tiempo en el que fue producida la lesión, con la posibilidad de ser utilizada en los casos médico legales.^{10, 18, 21}

Es evidente que al investigar la data de la lesión, es importante buscar primero la presencia de los leucocitos en torno a las vénulas poscapilares, recordando

que la infiltración por polimorfonucleares es el signo histológico de relevancia más precoz, siendo la tinción de hematoxilina- eosina el estándar de oro para su visualización, aunque es posible la utilización de otras tinciones para diferenciar el tejido conjuntivo (Van Gieson para fibras elásticas o tricrómico de Masson para colágeno).¹⁸ Los neutrófilos normalmente no se encuentran en la piel, de manera que su presencia es un hallazgo significativo. Mientras tanto, los monocitos macrófagos si se encuentran presentes en la piel normal, lo cual dificulta la interpretación del tiempo cuando se aprecia su aparición en el infiltrado. Algunos autores refieren su aparición 9 horas posteriores a la producción de la lesión, con un pico máximo entre el primer y el segundo día.²¹ A continuación, describen los eventos histológicos que ocurren cuando se produce una lesión.^{1, 2, 5, 12, 15}

30 minutos a 4 horas	<p>Ocurre marginación de leucocitos polimorfonucleares en vasos dilatados pequeños, aunque en ocasiones, esta respuesta se encuentra ausente.</p> <p>Los granulocitos tienden a aparecer de manera temprana en la grasa subcutánea antes que en las capas dérmicas superiores. Tanto células polimorfonucleares como células mononucleares emigran juntas (principalmente los neutrófilos), siendo la proporción de 5:1. Las células basófilas pierden sus gránulos. La fibrina aparece en la herida en cuestión de minutos, sin embargo, esto también ocurre en heridas</p>
----------------------	--

	post mortem
4 a 12 horas	A las 4 horas se observan algunos granulocitos neutrófilos alrededor de los vasos
8 a 12 horas	Formación de una zona periférica distinguible en torno a la herida, formada por granulocitos, macrófagos y fibroblastos. Los neutrófilos prevalecen sobre los monocitos en una relación 5:1 Necrosis inminente de la zona central de la lesión En heridas pequeñas el inicio de la regeneración epitelial puede empezar a observarse a nivel de la capa basal de la epidermis
12 horas	Los leucocitos tienden a demarcar el área de la lesión formando una empalizada marginal
16 a 24 horas	En número relativo de monocitos aumenta la relación de neutrófilos. Los monocitos macrófagos caen a 0.4:1 Es posible apreciar mitosis en los fibroblastos aproximadamente a las 15 horas La fibrina “más vieja” se tiñe de rojo brillante con azul escarlata de Martius, mientras que con la misma tinción, la fibrina “más nueva” se tiñe de color amarillo
24 horas	El número y polimorfonucleares y de fibrina llegan a su punto máximo, manteniéndose hasta dos o tres días.

24 a 48 horas	La epidermis migra del borde de sección hacia el centro de la herida.
48 horas	Los monocitos macrófagos alcanzan su máxima concentración en la zona periférica
48 a 72 horas	Los fibroblastos migran del tejido conjuntivo cercano a la periferia de la herida hay generación de nuevos vasos sanguíneos, infiltrando el estroma y generando “tejido de granulación”
Más de 72 horas	Se completa la epitelización de pequeñas heridas y excoiaciones La epidermis regenerada llega a ser altamente estratificada y más gruesa que la epidermis normal circundante. Es posible observar células gigantes alrededor del material necrótico y material extraño Es claramente visible el infiltrado de linfocitos
4 días	Se aprecian fibras de colágena nuevas

Mientras que algunos autores establecen el diagnóstico de inicio de la inflamación mediante la visualización de por lo menos tres o cuatro polimorfonucleares fuera vaso por campo microscópico en dos cortes distintos, otros autores consideran que la sola presencia de éstas células en el espacio extravascular es más que suficiente, sin establecer un número preciso.¹⁸

3. Criterio histoquímico: Las alteraciones morfológicas de la respuesta inflamatoria están precedidas y acompañadas por alteraciones funcionales. Entre ellas, como describiremos a detalle en apartados adelante, figura la liberación de una serie de enzimas contenidas en los lisosomas o en los componentes celulares que intervienen en éste proceso, lo cual se traduce como un incremento en su actividad en el sitio de la inflamación, mientras que, en las zonas de degeneración o necrosis, se presenta el efecto contrario.^{4, 7, 18}

Algunos cambios histoquímicos descritos en heridas, son los siguientes:

En heridas a través de la superficie de la piel, existe una zona central de aproximadamente 0.2 a 0.5 mm, el cual se volverá necrótico y en la cual, la actividad enzimática decrece con rapidez^{6, 12} Esta zona es conocida como “reacción vital negativa”², o zona central, detectable a partir de la primera hora de producción.³Inmediatamente más allá de ésta capa, existe una zona que mide aproximadamente 0.1 a 0.3 mm, la cual es una zona de reacción y eventual reparación, en la cual el número de enzimas y otras sustancias se incrementan durante el proceso de reparación previamente mencionado, comparado con el nivel normal en las áreas que se encuentran distantes de la lesión. Enzimáticamente, ésta zona se denomina “reacción vital positiva”², o zona periférica, la cual también es observable a partir de la primera hora posterior a la producción de la lesión³. Es preciso aclarar que ninguna de estas zonas se desarrolla en una herida postmortem.^{2, 7}

1. Dentro de la primera hora posterior a la lesión, las esterasas y la adenosin trifosfatasa se incrementan en la zona positiva, volviéndose detectables. Aproximadamente entre la primera, y la segunda horas^{2, 3}, la

actividad de la aminopeptidasa se incrementa a las dos horas de evolución³, mientras que entre las 4 a 8 horas aproximadamente, la actividad de la fosfatasa ácida se eleva.^{2, 3} La actividad de la fosfatasa alcalina se retarda aproximadamente por otra hora⁵, mientras que otros autores manejan una elevación aproximadamente a las 4 horas de producida la lesión.³ Es importante aclarar que éstos tiempos son relativos debido a la variabilidad biológica interindividuo.^{2, 3, 7}

Cuando la muerte ocurre en alguna fase de éste proceso, el patrón enzimático se ve “congelado” en ese punto, y los cambios post mortales no alteran sustancialmente las reacciones dentro de los primeros días posteriores a la muerte, especialmente si la autólisis es retardada mediante la refrigeración del cuerpo. En heridas contusas las reacciones son menos útiles que en otro tipo de lesiones, ya que el daño es más difuso y no hay zonas bien definidas²

Las catepsinas sufren una elevación casi inmediatamente cuando hay lesión en el estroma, siendo demostrables dentro de los primeros 5 a 10 minutos. Ambas se producen durante la respuesta inflamatoria que acompaña el daño del tejido²

La histamina y la serotonina son muy conocidas por participar activamente en el proceso inflamatorio agudo^{2, 7} tienden a aparecer de manera temprana posterior a la lesión (aproximadamente 10 minutos para la serotonina y 20 a 30 minutos para la histamina)² Para establecer que una herida fue producida de manera antemortem, el nivel de histamina en la herida debe de ser por lo menos 50% más elevado que en la muestra control; para la serotonina, por lo menos debe de elevarse dos veces sobre los niveles del control, dicho incremento alcanza su punto máximo a los 20-30 minutos de producida la lesión vital.^{6, 7}

En el caso de la serotonina, se ha comprobado una elevación al 100% en las heridas de carácter vital, con un pico máximo de 10 minutos de evolución.⁷

Respuesta inflamatoria aguda

No es posible hablar de cronología de la lesión sin antes conocer a detalle el proceso completo que comprende el proceso conocido como inflamación.

Inicialmente, la inflamación fue descrita y definida por John Hunter, en 1793 como "(...) un efecto destinado a restaurar la función normal, no debiendo ser considerada como una enfermedad, sino un proceso beneficioso que se produce tras la actuación de una noxa".⁷

Actualmente, la inflamación aguda es definida como la respuesta inicial e inmediata a una lesión, destinada a suministrar leucocitos y proteínas plasmáticas al foco inflamatorio.¹⁸

En el contexto de una lesión, o de un proceso infeccioso, las células dañadas proporcionan el estímulo para activar las vías de señalización que producen la respuesta inflamatoria. Las familias de receptores de reconocimiento de patrón, reconocen patrones moleculares relacionados con el peligro, y dirigen una respuesta inmunitaria coordinada.^{13, 22}

Se trata entonces, de una respuesta protectora tanto sistémica como local de los tejidos y la microcirculación frente a una agresión. Está caracterizada por la producción de mediadores inflamatorios, así como movimiento de líquidos y leucocitos que normalmente circulan en la sangre hacia el sitio de la lesión, tratando de eliminar la causa inicial de la lesión celular, además de las células y tejidos necróticos causados por la reacción inicial, preparando de ésta manera el camino hacia la regeneración y cicatrización del tejido dañado. Es importante

recordar que también las células y proteínas de la matriz extracelular también están implicadas en éstos procesos.^{13, 22}

Como característica especial, la inflamación aguda aparece de forma rápida y dura poco, generalmente unos pocos minutos a unos días, y presenta exudación de proteínas plasmáticas y líquido, y por la acumulación, predominantemente leucocitos. Siempre es inducida por mediadores químicos producidos por las células huésped en respuesta a los estímulos lesivos.¹³

Comprende tres fases separadas, pero interconectadas estrechamente entre sí^{9, 20, 22}:

- a) Hemostasia e inflamación
- b) Proliferación
- c) Maduración y remodelado

Entre las manifestaciones externas de la inflamación, que con frecuencia se conocen como sus signos cardinales, se encuentran el calor, el eritema (rubor), la tumefacción (tumor), el dolor y la pérdida de la función¹³

Antes de entrar de lleno en materia, es muy importante tener en cuenta los siguientes dos enunciados como corolarios¹⁸:

1. Todos los tejidos del organismo, con excepción del sistema nervioso, se inflaman y reparan de la misma forma siguiendo las mismas pautas; la razón de esto, es que el sistema nervioso carece del tejido conectivo, de vital importancia tanto en el proceso inflamatorio, como en el reparativo.
2. Si un tejido no se inflama, éste no se reparará.

Independientemente del órgano involucrado en la lesión, debemos distinguir tres tipos de reacciones⁸:

1. Reacciones celulares de limpieza, marcados por la migración de leucocitos neutrófilos, monocitos y linfocitos
2. Reacción molecular mediada por quimiocinas, especialmente citosinas y moléculas de adhesión
3. Reacción focal tisular por liberación de colágenos por fibroblastos, células endoteliales, así como la proliferación de células específicas del tejido lesionado

Cuando ocurre un estímulo lesivo, varias células expresan receptores, los cuales se encuentran diseñados para percibir la presencia de patógenos infecciosos y sustancias liberadas por las células muertas. Éstos receptores son conocidos como “receptores de reconocimiento de patrones”, cuyas dos familias principales son¹³:

- Receptores tipo Toll, los cuales reconocen los productos de las bacterias
- Inflamosomas, complejo citoplásmico constituido por múltiples proteínas, que reconoce los productos de las células muertas, como el ácido úrico y el trifosfato de adenosina extracelular, cristales y otros productos microbianos. Su activación causa la activación de la enzima llamada caspasa 1, la cual degrada las formas precursoras de la citosina inflamatoria interleucina 1 β , dando origen a su forma activa. Ésta interleucina es muy importante para la fase de reclutamiento de los leucocitos.

Debido al daño directo, los vasos pequeños se rompen, habiendo entonces una extravasación de sangre hacia el tejido conectivo, lo cual resulta en la rápida activación de la respuesta celular inflamatoria^{8, 21}, iniciando con una contracción y dilatación inmediatos de los vasos sanguíneos, esto bajo la influencia de

sustancias como el óxido nítrico, histamina, entre otros moduladores, permitiendo que el flujo sanguíneo se incremente y el lecho capilar se expanda.²²

Existe también un aumento en la permeabilidad vascular, la cual condiciona la acumulación de líquido y componentes plasmáticos en los tejidos afectados por la inflamación. En el lugar de la lesión se desarrollan mediadores inflamatorios específicos, los cuales actúan directamente sobre los vasos sanguíneos para incrementar la permeabilidad vascular; las células endoteliales también se ven afectadas, tanto por lesión directa como por una lesión indirecta mediada por los leucocitos, permitiendo el escape de líquido y células hacia el espacio extracelular, condicionando la aparición de edema.²²

Existe estimulación intravascular de plaquetas y células inflamatorias, así como liberación de mediadores inflamatorios que aumentan la permeabilidad vascular y el edema.²² Todos éstos cambios descritos tienen el fin de incrementar la concentración de eritrocitos y leucocitos dentro de la red capilar, éstos últimos son reclutados por factores quimiotácticos dando origen a un infiltrado del área por neutrófilos polimorfonucleares y posteriormente, con macrófagos mononucleares²¹, cuya función principal consiste en atacar al agente ofensor, retirando los tejidos dañados para dar paso al proceso de regeneración.²²

En un modelo fisiológico, existe un movimiento continuo de líquido desde el compartimento intravascular hacia el extravascular mediado por la diferencia de presiones; cuando éste se acumula en el espacio extravascular, es reintegrado a la circulación mediante los vasos linfáticos. Cuando alguno de los mecanismos reguladores de éste proceso se ve alterado, existe un desbalance

de presiones que termina por anular el transporte linfático, permitiendo la acumulación de líquido en el espacio intersticial, fenómeno que conocemos como edema no inflamatorio. Por otra parte, el edema inflamatorio encuentra su origen en las alteraciones físicas y químicas que ocurren en la microvasculatura inmediatamente después de sufrir una agresión; éste mecanismo se encuentra explicado de manera esquemática a través del modelo de la triple respuesta de Lewis, cuyos fenómenos se explican a continuación²²:

1. Vasoconstricción inmediata y transitoria de las arteriolas, dependiente de un sistema neurógeno y uno químico, la cual se va a resolver en segundos a minutos.
2. Vasodilatación de arteriolas precapilares, cuyo fin es el de aumentar el flujo de sangre hacia el tejido, y permitiendo la salida de la circulación de las proteínas plasmáticas y células¹³, generando así el fenómeno conocido como hiperemia (enrojecimiento de la zona), también regulado a través de mediadores químicos.²² Los leucocitos se empiezan a acumular a lo largo de la superficie endotelial vascular, proceso denominado marginación. Primer paso del viaje de los leucocitos a través de la pared vascular.¹³
3. Incremento en la permeabilidad de la barrera celular endotelial, la cual ocasiona el edema, fenómeno auspiciado por mediadores vasoactivos, los cuales inducen a la célula endotelial a contraerse de manera reversible, dando lugar a la formación de brechas, cuya función es la de permitir el paso de las células de la inmunidad, pero también contribuyendo al escape de líquido hacia el tercer espacio, potenciando aún más la aparición de edema.

Además de la contracción de las células endoteliales, existen otros mecanismos que contribuyen al aumento de la permeabilidad vascular, a saber¹³:

- La lesión endotelial per se ocasiona necrosis y desprendimiento de células endoteliales. La extravasación comienza inmediatamente después de la lesión y persiste varias horas (o días), hasta que los vasos lesionados sufren trombosis o son reparados. De la misma manera, la lesión puede ocasionar una extravasación tardía prolongada que comienza con un retraso de 2 a 12 horas, dura varias horas, incluso días, afectando vénulas y capilares. También el acúmulo de leucocitos activados a lo largo de la pared del vaso puede dañar de manera importante a las células endoteliales.

- Aumento de la transcitosis de proteínas por una vía vesicular intracelular hace que la permeabilidad de las vénulas sea mayor, principalmente tras la exposición a determinados mediadores, principalmente el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)

- Extravasación desde los vasos sanguíneos neoformados; como veremos más adelante, la reparación tisular implica la neoformación de vasos sanguíneos (angiogénesis), los cuales permanecen permeables hasta que las células endoteliales que proliferan, maduran lo suficiente para formar uniones intercelulares. Las células endoteliales nuevas expresan más receptores para los mediadores vasoactivos, y algunos también inducen de forma directa un aumento de la permeabilidad vascular.

Paralelamente a los fenómenos vasculares que favorecen la salida de células al espacio extravascular, ocurren sucesos celulares, los cuales se describirán a continuación.

Los leucocitos normalmente fluyen con rapidez por la sangre, y en la inflamación, es preciso que se detengan y lleguen al lugar donde se encuentra el agente lesivo o el foco de daño tisular, que típicamente se encuentran localizados fuera de los vasos.

La secuencia de acontecimientos para que esto ocurra, incluye los siguientes acontecimientos¹³:

- Marginación y rodamiento a lo largo de la pared vascular: Fenómeno que se ve facilitado debido al mayor peso y tamaño de los leucocitos, lo cual los desplaza fuera de la columna axial, central, y dándoles de ésta manera, mayor oportunidad para interactuar con las células endoteliales de revestimiento, sobre todo cuando aparece estasis. El proceso de acumulación de leucocitos en la periferia de los vasos sanguíneos se llama marginación. Con la activación de las células endoteliales, habrá expresión de moléculas de adhesión, a las cuales los leucocitos se unen de manera laxa. Las células se unen y separan, comenzando de éste modo a rodar sobre la superficie endotelial, proceso denominado rodamiento, el cual es mediado por una familia de moléculas llamadas selectinas, los cuales son receptores expresados en los leucocitos y el endotelio, y contienen un dominio extracelular que se liga a los azúcares.

Existen tres miembros principales de la familia de las selectinas: E-selectina (CD62E), que se expresa en las células endoteliales, las cuales se expresan en pequeña cantidad, o no aparecen en absoluto en el endotelio no activado, sufriendo un incremento en su expresión tras la estimulación por las citosinas y otros mediadores, de ésta manera, se asegura la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales solamente en casos de lesión; la P-selectina (CD62P),

expresada en las plaquetas y el endotelio, cuando no hay activación, ésta molécula se encuentra almacenada en los corpúsculos de Weibel-Palade; sin embargo, cuando ocurre exposición de las células a ciertos mediadores, como la trombina y la histamina, la P-selectina se expresa en la superficie celular, facilitando la unión de los leucocitos; y la L-selectina (CD62L) de la superficie de la mayoría de los leucocitos, cuya expresión (al igual que la de la E-selectina), es inducida tras la estimulación por las citosinas IL-1 y El TNF.

- Adhesión firme a la superficie endotelial, proceso mediado a través de moléculas llamadas integrinas, las cuales se expresan sobre las superficies de los leucocitos y sus correspondientes ligandos sobre las células endoteliales.

Las moléculas llamadas integrinas median la adhesión de los leucocitos al endotelio y de distintas células a la matriz extracelular. En condiciones fisiológicas, hay una expresión baja en las membranas plasmáticas de los leucocitos y no se unen a ligandos específicos, hasta que los leucocitos son activados por las quimiocinas, las cuales, a su vez, son citosinas quimiotácticas secretadas en los focos de inflamación, expresándose sobre la superficie endotelial. Cuando los leucocitos adheridos se encuentran con las quimiocinas expresadas, las células se activan, y sus integrinas sufren cambios conformacionales, agregándose juntas, convirtiéndolas de ésta manera las convierte en formas de alta afinidad. Citocinas adicionales, principalmente el TNF y la IL-1 activan las células endoteliales para aumentar la expresión de los ligandos para las integrinas y favorecer aún más la adhesión de los leucocitos al endotelio. Los ligandos principales son la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), que se une al antígeno asociado a la función de las integrinas del

leucocito 1 (LFA-1) y el antígeno de los macrófagos 1 (Mac-1), así como la molécula de adhesión de las células vasculares 1 (VCAM-1), la cual se une al antígeno muy tardío de las integrinas 4 (VLA-4).

- Transmigración entre las células endoteliales, conocida como diapédesis, y que ocurre principalmente en las vénulas de la vasculatura sistémica, la cual se encuentra mediada por las quimiocinas elaboradas en los tejidos extravasculares, los cuales estimulan el desplazamiento de los leucocitos a favor del gradiente químico; la molécula de adhesión entre las plaquetas y las células endoteliales 1 (PECAM-1), conocida también como CD31, molécula de adhesión celular expresada en los leucocitos y células endoteliales, media en los fenómenos de unión necesarios para que los leucocitos sean capaces de atravesar el endotelio. Después de hacerlo, los leucocitos liberan colagenasas, permitiéndoles atravesar la membrana basal vascular.

- Migración hacia los tejidos intersticiales en dirección al estímulo quimiotáctico, movimiento condicionado por la mayor densidad de receptores para quimiocinas en el margen de avance de la célula. Se trata de un acontecimiento muy importante el cual es seguido de la activación leucocitaria, lo cual les permite eliminar el estímulo lesivo.

El tipo de leucocito que migra depende de la duración de la respuesta inflamatoria, pero también del tipo de estímulo, predominando los neutrófilos durante las primeras 6 a 24 horas, siendo sustituidos por monocitos a las 24 a 48 horas.¹³

El hecho de que los neutrófilos sean los primeros respondientes obedece a diversos factores, a saber ^{11, 12}:

- Son las células predominantes en la sangre
- Responden con mayor rapidez a la presencia de quimiocinas
- Mayor capacidad de unión a las moléculas de adhesión

Sin embargo, posterior a su ingreso a los tejidos, desaparecen en un periodo de 24 a 48 horas, debido a un proceso de apoptosis, mientras que los mastocitos tienen un mayor tiempo de sobrevivencia.^{13, 22}

Una vez que los leucocitos han sido reclutados, deben de ser activados para que puedan realizar sus funciones, esto ocurre a través de la unión de receptores celulares que activan las funciones defensivas normales; como consecuencia, ocurre una amplificación de las siguientes funciones¹³:

- Fagocitosis de las partículas
- Destrucción intracelular de los microbios fagocitados y las células muertas
- Liberación de sustancias que destruyen los microbios extracelulares y los tejidos muertos, básicamente las mismas que las producidas dentro de las vesículas fagocíticas.
- Producción de mediadores, dentro de los cuales se incluyen los metabolitos del ácido araquidónico, y las citosinas

Posterior a la activación leucocitaria, ocurre el proceso llamado fagocitosis, proceso mediante el cual los neutrófilos proceden a ingerir las partículas muertas y microbios, y que consta de diversas fases, las cuales enumeraremos a continuación^{13, 22}:

1. Reconocimiento y unión de la partícula al leucocito responsable de su ingestión, todo esto mediado por la unión a receptores de superficie específicos.

Algunos reconocen componentes microbianos y las células muertas, otros reconocen las proteínas del huésped llamadas opsoninas, las cuales reciben a los microbios y los dirigen para que ocurra la fagocitosis (proceso denominado opsonización)

Las opsoninas más importantes son la inmunoglobulina G (IgG), los productos de la degradación de las proteínas del complemento (C3), y las lectinas, las cuales se ligan a moléculas denominadas colectinas, que a su vez se encuentran unidas a los grupos azúcar de la pared microbiana.

Por otra parte, los leucocitos poseen receptores como el Fc para las IgG (llamado FcYRI), receptores 1 y 3 del complemento (CR1 y CR3, respectivamente) para los fragmentos del complemento y C1q para las colectinas.

2. Engullimiento, con la consiguiente formación de una vacuola fagocítica, el cual ocurre mediante la extensión de pseudópodos alrededor del objeto hasta formar la vacuola, la cual se fusiona con la de un gránulo lisosómico y permitiendo la descarga del contenido de los gránulos dentro del fagolisosoma.

3. Destrucción y degradación del material ingerido, a través de la producción y liberación de sustancias microbicidas y enzimas lisosómicas, principalmente las especies reactivas de oxígeno y las especies reactivas de nitrógeno (principalmente el Óxido Nítrico). La degradación de los microbios muertos ocurre gracias a las hidrolasas ácidas provenientes del lisosoma.

Elementos celulares importantes durante la respuesta inflamatoria aguda

Los leucocitos son el principal componente celular de la respuesta inflamatoria.²² Existen 5 tipos de leucocitos en la sangre, que se clasifican sobre

la base de su contenido de gránulos citoplasmáticos específicos, visibles con el microscopio óptico, en leucocitos granulares y agranulares. Los granulocitos, a su vez se clasifican de acuerdo con las características tintoriales de los gránulos citoplasmáticos en granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los leucocitos agranulares comprenden a los linfocitos y los monocitos. A menudo, los leucocitos se dividen sobre la base de la forma del núcleo, en mononucleares y polimorfonucleares.²³

Los granulocitos neutrófilos son los principales participantes de la respuesta inflamatoria aguda²² tienen 12-15 μm de diámetro, con un núcleo muy característico, dividido en 3 -5 lóbulos, unidos mediante finos filamentos de cromatina. La cromatina forma grumos gruesos, fuertemente coloreados y no se distinguen nucleólos.²³ El núcleo lobulado dio origen a la denominación leucocitos polimorfonucleados. Los granulocitos neutrófilos inmaduros aún carecen de divisiones en el núcleo, y se denominan en cayado. La cantidad de lóbulos incrementa con la edad del leucocito, y en las formas hiper maduras se pueden hallar 6 o más lóbulos nucleares. Estas células se denominan hipersegmentadas. El citoplasma contiene numerosos gránulos finos que apenas se resuelven con el microscopio óptico.²³ Es precisamente de éstos gránulos de los que hablaremos en seguida, dado su importante contenido enzimático²²:

- Gránulos primarios (Azurófilos): Con un contenido rico en hidrolasas ácidas y proteasas de serina neutrales, las cuales poseen la capacidad de digerir diferentes tipos de moléculas. La lisozima y FLA2 degradan las paredes de las células bacterianas, así como de las membranas biológicas. También

poseen la enzima mieloperoxidasa, vital en la formación de especies reactivas de oxígeno. Su potente actividad antibacteriana y de la proteinasa puede activar de manera directa a otras células de la inflamación.

- Gránulos secundarios (Específicos): Ricos en FLA2, lisozima y proteínas que inician la destrucción de células específicas. También contienen a la proteína catiónica, lactoferrina, y una metaloproteinasa de la matriz (colagenasa) específica para el colágeno tipo IV.
- Gránulos terciarios (o de almacenamiento pequeños, o C): Fuente de enzimas cuya función principal consiste en favorecer la migración celular a través de la membrana basal y los tejidos, y que incluyen a las proteinasas catepsina, gelatinasa y el activador de pepsinógeno tipo urocinasa.

Los receptores que son reconocidos por sus correspondientes neutrofílicos son la fracción constante de la IgG y la IgM, así como los componentes del complemento C5a, C3b e i C3b, los metabolitos del ácido araquidónico, los factores quimiotácticos y las citosinas.²²

Su función principal consiste en fagocitar los microbios invasores, así como la degradación del tejido muerto, a través de la liberación de proteasas. Cuando su función es llevada a cabo con éxito y ya no son requeridos, sufren un proceso de apoptosis.^{13, 22}

Los granulocitos eosinófilos tienen un diámetro de 12-15 μm y un núcleo con dos lóbulos grandes unidos por una fina hebra de cromatina, que en ocasiones presenta un grumo pequeño de cromatina. Los grumos de cromatina son gruesos y se tiñen intensamente, y no se distinguen nucleólos. El citoplasma está casi cubierto por grandes gránulos muy eosinófilos, que rara vez cubren el

núcleo, éstos se encuentran limitados por una membrana y tienen un interior homogéneo en el que se encuentra un cristal electrodense. Éstos gránulos contienen mieloperoxidasa, leucotrienos, FAP, fosfatasa ácida y peroxidasa.^{22,}

²³ Se encuentran circulando en la sangre, y son reclutados hacia los tejidos de manera similar a los neutrófilos; suelen encontrarse en las reacciones mediadas por IgE (Hipersensibilidad, alérgicas y asmáticas).^{13, 22}

Los granulocitos basófilos tienen un diámetro de 12 a 15 μm y un núcleo con 2 o tres lóbulos, que puede presentar forma de S. La cromatina tiene grumos menos gruesos y se tiñen con menos intensidad que los demás granulocitos. No se distinguen nucléolos.²³ Son células importantes en la regulación de la permeabilidad vascular, así como en el mantenimiento del tono del músculo liso bronquial. Es usual encontrarlos en tejido conjuntivo, prevaleciendo preferentemente en pulmón, superficie mucosa digestiva, dermis y la microvasculatura.^{13, 22} Histológicamente, los gruesos gránulos que se encuentran agrupados de manera densa son muy metacromáticos y se tiñen de rojo violáceo, tienen un interior electrodense que puede incluir cristales. Son intensamente metacromáticos, debido a su rico contenido en heparina, aunque también contienen enzimas lisosómicas, peroxidasa, proteasas de serina, mediadores quimiotácticos para los neutrófilos y eosinófilos, así como histamina, la cual se une a receptores específicos H1 de la pared vascular, ocasionando la contracción celular, la formación de brechas que permiten la migración celular, y es un importante mediador de la formación de edema.^{13, 22,}

²³ Su estimulación también puede acarrear la liberación de productos del metabolismo del ácido araquidónico, especialmente LTC₄, LTD₄ y LTE₄, así

como de citosinas como el TNF α y la IL4(21). Como característica histológica propia, a menudo ocultan el núcleo, pero varían en número, tamaño y color en los extendidos sanguíneos, porque son hidrosolubles y, por ello, difíciles de conservar²³.

Los monocitos/macrófagos son células grandes, de 12 a 18 μm de diámetro y tienen un núcleo con forma de riñón o de herradura.^{22, 23} Pueden salir de la circulación para migrar a los tejidos, en donde se transforman en macrófagos residentes.²² En el caso que nos atañe, se acumulan en respuesta a los mediadores inflamatorios, para cumplir con la función de atrapar y procesar a los microbios y tejido desvitalizado.^{13, 22} La cromatina se caracteriza por tener gránulo fino, sin nucleólo visible. El abundante citoplasma presenta un color gris azulado, a menudo posee vacuolas y contiene gránulos azurófilos dispersos, los cuales contienen hialuronidasas ácidas, así como potentes mediadores vasoactivos, entre ellos: Prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de plaquetas (FAP) y las citosinas inflamatorias.^{22, 23} Siendo éstas células de especial importancia en el mantenimiento de la inflamación crónica.²²

Los linfocitos son células pequeñas, de 7 μm . El núcleo es redondeado o presenta una pequeña escotadura y la cromatina es de gránulos gruesos sin nucleólo visible. El núcleo ocupa casi toda la célula, sólo está rodeado por un fino borde de citoplasma claro, de color azul, en el que se distinguen algunos gránulos azurófilos aislados.²³

Un pequeño porcentaje de los linfocitos es un poco más grande, con un diámetro de 10 a 15 μm y presentan citoplasma granulado. Se denominan grandes linfocitos granulares (son idénticos a las células NK).²³

La relación entre la cantidad de los distintos tipos de leucocitos de la sangre circulante es muy constante en personas sanas, con un promedio de alrededor de 60% de neutrófilos, 3% de eosinófilos, 0.5% de basófilos, 5% de monocitos y 30% de linfocitos.²³

Otras células que participan en la respuesta inflamatoria aguda

Si bien los leucocitos son los principales protagonistas en el desarrollo de la inflamación, no son los únicos elementos celulares que participan en la misma, ya que dependen del apoyo de otras células, las cuales los ayudan a llegar al sitio de lesión mediante la expresión de receptores y liberación de sustancias solubles que les señalan el lugar exacto en donde deben actuar, y también, cuando la función de la inflamación aguda ha cumplido con su función, les indican que es momento de terminar, a través de una retroalimentación negativa. A continuación, se procede a describir éstas células²²:

Células endoteliales

Son células que se encuentran en el interior de los vasos sanguíneos, en forma de monocapa. Su función es la de separar el espacio intravascular del espacio extravascular; también tienen la función de secretar agentes antiplaquetarios y antitrombóticos, los cuales mantienen la permeabilidad de los vasos sanguíneos, así como vasodilatadores y vasoconstrictores, con el fin de regular el tono de la vasculatura.²²

La función más importante dentro del proceso inflamatorio, es la de facilitar o inhibir la perfusión en los tejidos y la entrada de células inflamatorias. Los agentes inflamatorios, los cuales desglosaremos más adelante, inducen a éstas células a exhibir moléculas de adhesión sobre su superficie, las cuales ayudan

a la fijación y activación de los leucocitos, también las inducen a presentar el complejo mayor de histocompatibilidad I y II, y a producir mediadores vasoactivos e inflamatorios, a saber²²:

- Óxido Nítrico
- Endotelinas: Agentes vasoconstrictores y de presión potentes, las cuales inducen la vasoconstricción prolongada del músculo liso vascular.
- Factores constrictores derivados del ácido araquidónico: Tales como el tromboxano A2 (TXA2), y la prostaglandina H2 (PGH2)
- Factores relajantes derivados del ácido araquidónico: Principalmente prostaglandina I2 (PGI2), la cual es considerada el oponente biológico del TXA2, y que tiene la función de inhibir la agregación plaquetaria y causar vasodilatación.
- Citocinas: IL- 1, IL-6, TNF- α , entre otras.
- Anticoagulantes: Moléculas heparinoides y trombomodulina, las cuales cuentan con la capacidad de inactivar la cascada de la coagulación.
- Factores fibrinolíticos: Principalmente el activador de plasminógeno de tipo hístico
- Agentes protrombóticos: Mientras que el Factor de Von Willebrand permite la adhesión plaquetaria, el factor hístico activa la cascada de la coagulación extrínseca.

Células dendríticas

Las cuales derivan de los precursores de la médula ósea, circulando en sangre como precursores inmaduros, y con una posterior distribución extensa en todos los tejidos, en donde finalmente sufren una diferenciación. Tienen la capacidad

de estimular células T vírgenes, mediante la presentación de antígenos unidos al complejo mayor de histocompatibilidad clase II.²²

Plaquetas

Células consideradas fuentes importantes de mediadores inflamatorios, incluyendo sustancias vasoactivas y factores de crecimiento, los cuales modulan la proliferación de células mesenquimatosas.²²

Histológicamente, se trata de ejemplares pequeños, con un tamaño promedio de 2µm de diámetro, careciendo de núcleo. Contienen tres componentes básicos, a saber^{22, 23}:

- Gránulos densos, ricos en serotonina, histamina, calcio y difosfato de adenosina
- Gránulos alfa, ricos en fibrinógeno, proteínas de la coagulación, factor de crecimiento derivado de las plaquetas y otros péptidos y proteínas
- Lisosomas, los cuales contienen hidrolasas ácidas

Al hacer contacto con el colágeno fibrilar, se adhieren a él, se agregan y proceden a sufrir un proceso de desgranulación, el cual se ve acompañado por liberación de serotonina (5 hidroxitriptamina), la cual, al igual que la histamina, posee la propiedad de aumentar directamente la permeabilidad vascular. Aunado a esto, cuando las plaquetas finalmente se activan, tienden a secretar proteínas catiónicas, las cuales neutralizan las cargas negativas del endotelio, facilitando así, el incremento en la permeabilidad.^{13, 22}

Existe una segunda oleada de agregación plaquetaria, la cual se ve influenciada por el TXA₂.²²

Mediadores de la inflamación

Como mencionamos previamente, todas las células involucradas en el proceso de inflamación aguda, son fuentes potenciales de mediadores vasoactivos. Es importante describirlos a detalle, ya que cada uno cuenta con un papel perfectamente definido en éste proceso tan delicado.²²

Los mediadores pueden ser producidos localmente por células en el foco inflamatorio o derivar de precursores inactivos circulantes (los cuales típicamente son sintetizados en el hígado), y que son activados en el foco de inflamación.¹³

De manera característica, los mediadores plasmáticos derivados de las proteínas circulan en una forma inactiva y, típicamente, sufren una degradación por proteólisis para adquirir sus propiedades biológicas.¹³

- La mayor parte actúan mediante la unión a receptores específicos en distintas células diana, pudiendo actuar solamente sobre uno o unos pocos tipos celulares, o tener diversas acciones, con distintos resultados en función del tipo celular al que afectan, mientras que otros no necesitan ésta unión, ya que su actividad tóxica es directa.¹³

- Poseen una vida media corta, aunque también son inhibidos mediante retroalimentación negativa, consiguiendo de esa manera un balance adecuado que permita la existencia de la inflamación, sin lesionar más el tejido de por sí ya dañado.^{13, 22}

A su vez, podemos clasificar a los mediadores de acuerdo a su origen en celulares y plasmáticos.^{13, 22}

a) Origen celular

Aminas vasoactivas

Histamina y serotonina, las cuales se almacenan como moléculas preformadas en los mastocitos y otras células, y son de los primeros mediadores inflamatorios en ser liberados durante la reacción inflamatoria aguda.^{13, 22}

Mientras que la histamina es generada por muchos tipos celulares, principalmente los mastocitos, basófilos y plaquetas circulantes. Provoca dilatación arteriolar y aumenta con rapidez la permeabilidad vascular al inducir la contracción del endotelio venular y la formación de hendiduras interendoteliales. Por otra parte, la serotonina (5-hidroxitriptamina), se encuentra usualmente dentro de los gránulos de las plaquetas, siendo liberado cuando éstas se agregan. Su función es la de inducir la vasoconstricción durante la coagulación.^{13, 22}

Derivados del metabolismo de los fosfolípidos y del ácido araquidónico (Prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas, factor de activación plaquetaria)

Su principal origen radica en los leucocitos, mastocitos, células endoteliales y plaquetas. También conocidos como eicosanoides, son capaces de mediar virtualmente, en todos los pasos de la inflamación. Su síntesis se incrementa en los sitios de respuesta inflamatoria, aunque actúan localmente en el lugar en donde son generados y, posteriormente, son degradados de forma espontánea o destruidos por mecanismos enzimáticos.^{13, 22}

El metabolismo del ácido araquidónico tiene lugar mediante dos vías enzimáticas: Mientras que la ciclooxigenasa da origen a las prostaglandinas y

tromboxanos, la lipooxigenasa es la responsable de la formación de leucotrienos y lipoxinas.^{13, 22}

- Prostaglandinas y tromboxanos: Principalmente la prostaglandina E2 (PGE2), PGD2, PGF2 α , PGI2 (Prostaciclina) y tromboxano A2 (TXA2). Las plaquetas poseen la enzima tromboxano sintasa, siendo responsables de la formación de TXA2, el cual favorece la agregación plaquetaria y la vasoconstricción de manera importante; las células endoteliales poseen a la prostaciclina sintasa, formando así a la PGI2, vasodilatador e inhibidor potente de la agregación plaquetaria. Por otra parte, la PGD2 tiene origen en los mastocitos, al igual que PGE2 y PGF2 α , produciendo vasodilatación y potenciando la formación de edema.

Existen dos formas de la enzima ciclooxigenasa, COX-1 y COX-2. La primera es elaborada en respuesta a los estímulos inflamatorios y se expresa de forma constitutiva en la mayor parte de los tejidos, en donde estimula la producción de prostaglandinas que tienen una función homeostática, como la citoprotección del tubo digestivo. Por otra parte, la COX-2 es inducida por los estímulos inflamatorios, sin que llegue a expresarse en la mayor parte de los tejidos normales.

Todos éstos mediadores tienen un papel importante en el dolor y la fiebre asociados a la inflamación.²²

- Leucotrienos, elaborados por la acción de la 5-lipooxigenasa, enzima localizada principalmente en los neutrófilos. Primero se genera leucotrieno A4 (LTA4), el cual, a su vez, da lugar a LTB4, en los neutrófilos y algunos macrófagos, y que es un quimiotáctico muy potente para los neutrófilos; y LTC4,

principalmente generado por los mastocitos, y que, junto con sus derivados LTD4 y LTE4, son importantes mediadores de la broncoconstricción y aumento de la permeabilidad vascular.

- Lipoxinas, Generadas debido a la degradación de los metabolitos del ácido araquidónico derivados de la lipooxigenasa, y que poseen la capacidad de inhibir la quimiotaxis de los neutrófilos y su adhesión al endotelio, fungiendo como antagonistas de los leucotrienos. Las plaquetas ya adheridas son fuente importante de éstos mediadores.

- Factor activador de las plaquetas, se trata de un mediador derivado de los fosfolípidos, con una gama muy amplia de efectos inflamatorios, el cual debe su nombre a su capacidad de agregar las plaquetas y facilitar su desgranulación. Se genera a partir de los fosfolípidos de la membrana de los neutrófilos, monocitos, basófilos, células endoteliales y plaquetas (entre otras células), por la acción de la fosfolipasa A2. Actúa de manera directa sobre las células diana mediante un receptor específico acoplado a una proteína G.

Sus efectos principales consisten en la de provocar broncoconstricción e inducir vasodilatación y un aumento de la permeabilidad vascular con una potencia de 100 a 1000 veces superior a la de la histamina, estimulando la síntesis de otros mediadores, como eicosanoides y citosinas, en las plaquetas y otras células. También tiene la capacidad de favorecer una mayor adhesión leucocitaria, quimiotáctica, desgranulación de los leucocitos y favorecer el estallido respiratorio.

- Citocinas, Productos polipeptídicos de muchos tipos celulares, los cuales actúan como mediadores de la inflamación y las respuestas inmunitarias,

diferentes citosinas se encuentran involucradas en las reacciones inflamatorias e inmunitarias precoces frente a los estímulos nocivos y en las respuestas inmunitarias adaptativas tardías. Son sintetizadas y liberadas por células especializadas en respuesta a varios estímulos, afectando el comportamiento de las células sobre las que actúan.²⁰ Algunas estimulan la producción de más leucocitos a partir de los precursores medulares, para reponer los que se van consumiendo durante las respuestas inflamatorias e inmunitarias.^{13, 22}

Un subtipo de las citosinas, son llamadas interleucinas, en alusión a su capacidad de mediar en la comunicación entre los leucocitos. Las principales citosinas en la inflamación aguda son el TNF, la IL-1, IL-6, y un conjunto de citosinas quimiotácticas llamadas quimiocinas.¹³

□ Factor de necrosis tumoral e interleucina 1, ambos son elaborados por los macrófagos activados, mastocitos, células endoteliales y otros tipos celulares. Su secreción es estimulada por los productos microbianos como la endotoxina bacteriana, inmunocomplejos y productos de los linfocitos T generados durante las respuestas inmunitarias adaptativas. El papel principal de ambas, es la activación endotelial, así como el estímulo de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales, con el consiguiente aumento de la unión de los leucocitos y su reclutamiento, y estimulan la producción de otras citosinas y eicosanoides.

□ El TNF incrementa la capacidad de trombogenicia del endotelio, mientras que la IL-1 activa a los fibroblastos tisulares, los cuales proliferan y producen más matriz extracelular. Ambas pueden entrar en la circulación y actuar en

lugares distantes en los que inducen la reacción sistémica de fase aguda que, con frecuencia, se asocia a las enfermedades infecciosas e inflamatorias.

- Quimiocinas: Familia de proteínas pequeñas, las cuales actúan como agentes quimiotácticos para los distintos subtipos de leucocitos, además de activar a los leucocitos. Algunas de ellas se producen de forma constitutiva en los tejidos y son responsables de la segregación de las distintas poblaciones celulares en los tejidos.^{13, 22}

Éstas sustancias median su actividad mediante la unión a unos receptores específicos acoplados a la proteína G en las células diana. Las quimiocinas se clasifican en cuatro grupos en función de la disposición de los residuos cisteína conservados, los dos grupos fundamentales son las quimiocinas CXC y CC

□ CXC: Que poseen un aminoácido que separa las cisteínas conservadas y actúan fundamentalmente sobre los neutrófilos. La IL-8 es típica de este grupo.

□ CC: Las cuales contienen residuos de cisteínas adyacente y entre ellas se encuentra la proteína atrayente de los monocitos 1 (MCP-1), y la proteína inflamatoria macrofágica 1 α (MIP-1 α), fundamentalmente quimiotácticas para los monocitos; RANTES, y la eotaxina.

- Óxido nítrico: Radical libre en forma de gas, soluble y con poca duración, elaborado por muchos tipos celulares, mediador de diversas funciones. Los macrófagos lo emplean como agente citotóxico para destruir microbios y células tumorales; por otra parte, las células endoteliales lo producen para relajar el músculo liso vascular y provoca vasodilatación.¹³

Es sintetizado de novo a partir de la L-arginina, oxígeno molecular y NADPH por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS); juega un papel crucial como molécula de

señalización en el proceso de curación de las heridas. Se sintetiza durante la conversión de l-arginina a l-citrulina por la acción de la familia de óxido nítrico sintasa (NOS).^{13, 16, 22}

Existen tres isoformas, de las cuales, dos se expresan de manera constitutiva en diversas células, incluyendo la óxido nítrico sintasa neuronal (n NOS), y la óxido nítrico sintasa endotelial (e NOS). La tercera isoforma es inducible (i NOS), y es activado en respuesta a varios estímulos tales como citosinas, endotoxinas y condiciones fisiopatológicas. La distribución de la i NOS sugiere que el óxido nítrico juega un rol esencial en todas las secuencias de curación de las heridas; afectando la fase inflamatoria, la proliferación celular, diferenciación y apoptosis, formando tejido de granulación y neovascularización, y teniendo alcance en el tejido de remodelación.^{16, 22}

Bajo condiciones normales, la i NOS usualmente no se encuentra activa, sino que se activa debido al efecto de agentes proinflamatorios localizados en los tejidos afectados.¹⁶

b) Origen plasmático

- El sistema del complemento, el cual es un grupo de proteínas cuya función es la defensa contra microbios, a través de la formación del Complejo de Ataque a la Membrana, complementando a los anticuerpos y destruyendo bacterias. Su importancia radica en que los componentes del mismo constituyen per se moléculas inflamatorias.^{13, 22}

• Anafilotoxinas: Constituidas por C3a, C4a y C5a, que participan en la contracción del músculo liso y aumentan la permeabilidad vascular²², provocando la vasodilatación porque inducen a la liberación de histamina por

los mastocitos.^{13, 22} Así mismo, C5a activa la vía de la lipooxigenasa en los neutrófilos y macrófagos, promoviendo la liberación de más mediadores inflamatorios.¹³

Estas mismas moléculas activan los leucocitos, aumentando así su adhesión al endotelio, siendo un potente factor quimiotáctico.

- Oponinas (C3b, iC3b), las cuales favorecen el proceso de fagocitosis al habilitar receptores en las membranas de las células fagocíticas para reconocer y unir bacterias opsonizadas.^{13, 22} Contribuyen al proceso inflamatorio al aumentar la permeabilidad vascular.¹³

- Moléculas proinflamatorias (CAM, C5a), las cuales también activan leucocitos y células de los tejidos para generar oxidantes y citosinas e inducir a la desgranulación de las células cebadas y los basófilos.²² Específicamente, el CAM está constituido por múltiples copias del componente final C9, mediante la creación de poros que alteran el equilibrio osmótico.¹³

- Activación del sistema de la coagulación

Como dato clave de la iniciación de la respuesta, se ha descrito al factor de Hageman (XII de la coagulación), el cual tiene origen en el hígado, y que es activado cuando se expone a superficies negativas (Membranas basales, enzimas proteolíticas, lipopolisacáridos bacterianos, colágeno, membrana basal o las plaquetas activadas), iniciando así la activación de proteasas plasmáticas, las cuales van a desencadenar los cuatro fenómenos que se describen a continuación^{13, 22}:

1. Conversión de precalicreína en calicreína (sistema de las cininas), la cual escinde el cininógeno de alto peso molecular, lo cual da lugar a su vez a la

generación de más péptidos vasoactivos de alto peso molecular llamados cininas, agentes inflamatorios amplificadores de la respuesta inflamatoria.²²

Volviendo al modelo fisiológico, la bradicinina y los péptidos relacionados con ella, cumplen funciones dentro del organismo como son la regulación de la presión arterial, la contracción y relajación del músculo liso, la extravasación del plasma, respuesta al dolor de origen inflamatorio, y la más importante para éste texto: Activación de células inflamatorias. Todas éstas funciones son reguladas a través de dos receptores a saber, B1, activado selectivamente por los metabolitos de la bradicinina, y los receptores B2, los cuales presentan una expresión más amplia. Al ser activados, las células de los tejidos locales, y las células inflamatorias son estimuladas para producir más mediadores, principalmente prostanoïdes, citocinas, óxido nítrico y taquicininas.²²

2. Conversión de plasminógeno a plasmina (sistema fibrinolítico), la cual es una proteasa multifuncional ocasionando fibrinólisis mediante la degradación de la fibrina y de esa manera, aumentando la permeabilidad vascular tanto en piel como en pulmones. A su vez, la plasmina escinde los componentes iniciadores de la cascada del complemento, C3 y C5, generando productos con actividad biológica C3a y C5a, también puede activar el factor de Hageman.²²

Sus potentes efectos son controlados de manera eficaz por las enzimas denominadas cininasas, las cuales tienen un efecto rápido sobre las cininas, condicionando una vida media corta.²²

3. Activación del sistema de coagulación, induciendo la actividad de la trombina, los fibrinopéptidos y el factor X, todos ellos con propiedades inflamatorias (Cascada de la coagulación). La cascada proteolítica conduce a la

activación de la trombina, que degrada el fibrinógeno circulante soluble para generar un coágulo de fibrina insoluble. El factor Xa aumenta la permeabilidad vascular y la migración de los leucocitos.^{13, 22}

La unión de la trombina a estos receptores en las células endoteliales determinan su activación y fomenta la adhesión de los leucocitos. Además, la trombina genera fibrinopéptidos, que aumentan la permeabilidad vascular y son quimiotácticos para los leucocitos. La trombina también degrada C5, para generar C5a, vinculando la coagulación con la activación del complemento.^{13, 22}

4. Activación del sistema del complemento, explicado previamente, y que culmina con la producción de las anafilotoxinas C3a y C5a

Al final, la inflamación aguda evoluciona de cualquiera de las siguientes formas¹³:

- Resolución: Regeneración y reparación, conduciendo a la recuperación de la normalidad estructural y funcional, lo cual ocurre cuando se termina la respuesta inflamatoria aguda. Esto implica la neutralización, degradación enzimática o reducción de los mediadores químicos, normalización de la permeabilidad vascular, la interrupción de la migración leucocitaria, y la expresión de mediadores que inhiben la inflamación, limitando así la reacción. Mientras que las células residuales del tejido proliferan para recuperar su integridad estructural.

- Inflamación crónica: Cuando ocurre un fallo en la eliminación del agente agresor, aunque también puede aparecer desde el inicio de la lesión.

- Cicatrización: Tipo de reparación que se produce después de la destrucción de una cantidad importante de tejido, o cuando la inflamación afecta

a tejidos incapaces de regenerarse, en los cuales, el tejido lesionado es ocupado por tejido conjuntivo, cuando hay depósitos de tejido conjuntivo muy extensos, el resultado será la fibrosis.

Material y método

Se realizó un estudio en el Instituto de Ciencias Forenses de la Ciudad de México (INCIFO), en el periodo comprendido entre diciembre de 2018 y mayo de 2019, de tipo observacional, descriptivo, transversal y prospectivo, el universo de estudio fue constituido por el grupo de sujetos con heridas contusas localizadas en la región de la piel cabelluda, los cuales acudieron a solicitar atención médica al servicio de urgencias al Hospital General de Xoco. Se incluyeron 30 biopsias consistentes en los bordes de la herida, con el fin de regularizarla, recolectadas durante el periodo ya descrito, previa autorización de los individuos mediante la firma de un consentimiento informado diseñado específicamente para éste proyecto. (Anexo I) La biopsia más pequeña midió 0.3 por 0.2 por 0.2 centímetros, mientras que la de mayor tamaño midió 1.5 por 0.3 por 0.2 centímetros.

Para el registro de los datos generales, se diseñó una encuesta estadística, en la cual se incluyeron los siguientes rubros: Fecha y hora de la toma de la muestra, edad del sujeto de estudio, ocupación, fecha y hora de producción de la lesión, objeto vulnerante, posibles padecimientos que pudiera poseer el sujeto y una lista de medicamentos y tratamientos a los que el sujeto pudiera estar sometido al momento de la toma de la muestra y pudieran influir directamente sobre los resultados (Anexo II). Además de un esquema anatómico del cual fue tomada la pieza (Anexo III).

Se procedió a procesar las muestras recolectadas en el laboratorio de patología del INCIFO, donde fueron incluidas, procesadas y teñidas con la técnica Hematoxilina – Eosina para su posterior visualización con microscopio de luz, y

se registraron las características microscópicas del contenido en un formato de recolección diseñado expresamente para el caso (Anexo IV).

Para la identificación de los elementos celulares que componen el infiltrado inflamatorio en las 30 muestras, fue empleado un microscopio Carl Zeiss modelo Axiostar plus, el cual cuenta con los estándares normativos e institucionales adecuados para su funcionamiento.

Posteriormente, se elaboró una base de datos en Excel, se realizó su procesamiento estadístico en el programa *Statistical Package for the Social Science* o SPSS versión 23. Para la presentación y análisis de los resultados se emplearon elementos de estadística descriptiva, medidas de tendencia central (moda, media y mediana), así como el uso de gráficas y cuadros.

Desde el punto de vista bioético, el estudio corresponde a una investigación de riesgo mínimo, siendo necesarias las siguientes medidas para la protección del sujeto de estudio: Asepsia y antisepsia de la región, aplicación de anestesia previa realización del procedimiento, uso de material estéril durante el procedimiento, profilaxis antibiótica, de ameritarlo el caso. Mientras que en el personal participante fue necesario el uso de medidas de bioseguridad, tales como el uso de guantes, cubre bocas, gafas protectoras, bata quirúrgica, bata de laboratorio y manejo cuidadoso de las laminillas portaobjetos de vidrio.

El estudio cuenta con autorización del comité de bioética del Hospital General de Xoco, con número de autorización: 2070105518.

Anexo I. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D. F., a

Día		Mes		Año	

A quien corresponda.

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio. **“Descripción del infiltrado inflamatorio en biopsias en heridas contusas en piel cabelluda en sujetos vivos”**, que se realiza en esta institución y cuyo objetivo general consiste en identificar la presencia de cambios microscópicos en cortes histológicos de heridas producidas por aplicación de energía cinética (contusión) localizada en piel cabelluda, así como su evolución en relación al tiempo de producción de la misma.

Estoy consciente de que los procedimientos, pruebas y tratamientos para lograr el objetivo mencionado consiste en donar 3 milímetros de tejido provenientes de la regularización de los bordes de mi herida, y que los riesgos para mi persona son: Dehiscencia de la herida y cicatrización no adecuada.

Entiendo que del presente estudio se derivarán los siguientes beneficios: Ésta actividad no cuenta con un cargo económico, la toma del tejido sobrante ayuda a regularizar los bordes de la herida, la cual será más fácil de suturar, dando como resultado una cicatriz más estética. Además, se me podrá informar de cualquier hallazgo de importancia relacionado con el área de la lesión. El procedimiento no es invasivo, y tiene un tiempo total de duración de 25 minutos incluyendo la regularización del borde de la herida y la sutura de la misma.

Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio.

Así mismo, cualquier trastorno temporalmente relacionado con esta investigación podré consultarlo con el Jefe de Enseñanza e Investigación de la unidad de atención; Doctora María Guadalupe Flores Alcántar, dirección dirección Avenida México Coyoacán y Bruno Traven C.P. 03340 y con el investigador responsable Doctora Claudia Ivette Paredes López, No. teléfono 7711279729, dirección Avenida México Coyoacán y Bruno Traven C.P. 03340. El Jefe de Enseñanza e Investigación comunicará el evento a la Dirección de Educación e Investigación de la SSCDMX, en donde se decidirá la necesidad de convocar al investigador principal y al Cuerpo Colegiado competente, para su resolución.

En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada.

Nombre.	Firma.
(En caso necesario, datos del padre, tutor o representante legal)	
Domicilio.	Teléfono

Nombre y firma del Investigador responsable. Paredes López Claudia Ivette	Firma.
Domicilio.Avenida México Coyoacán y Bruno Traven C.P. 03340	Teléfono 7711279729

c. c. p. Paciente o familiar

c. c. p. Investigador (conservar en el expediente de la investigación).

Anexo II. Encuesta estadística

Fecha: _____

Hora: _____

Nombre:

Edad: _____

Ocupación: _____

Fecha y hora de producción de la lesión: _____

Objeto con el cual se produjo la lesión: _____

¿Padece usted algún tipo de padecimiento crónico? () si () no (Si la respuesta es no, favor de omitir la sección siguiente)

En caso de padecer algún padecimiento crónico, favor de indicar cuál (puede marcar más de dos):

Diabetes		Síndrome de Cushing	
VIH/SIDA		Hiperuricemia (ácido úrico)	
Desnutrición		Otro (Favor de especificar)	
Cáncer de cualquier tipo			
Alteraciones de la coagulación			
Enfermedades Autoinmunes			

¿Recibe usted algún tipo de tratamiento médico actualmente? Si () No ()
(Si la respuesta es no, favor de omitir la sección siguiente)

En caso de recibir alguno de los siguientes tratamientos, favor de indicar cuál (puede marcar más de dos):

Quimioterapia	
Antiinflamatorios no esteroideos (Aspirina, paracetamol, metamizol, naproxeno)	
Hipoglucemiantes (Metformina, glibenclamida, pioglitazona...)	
Radioterapia	
Anticoagulantes (Aspirina, warfarina)	
Glucocorticoides (Metilprednisolona, prednisona, dexametasona)	
Inmunosupresores (Metotrexato, azatioprina, mercaptopurina, hidroxicina, colchicina)	
Otro (Por favor, especifique)	

**Anexo III. ESQUEMA DE SITIO ANATÓMICO DE DONDE SE TOMÓ LA
MUESTRA**



Anexo IV. Características microscópicas a evaluar

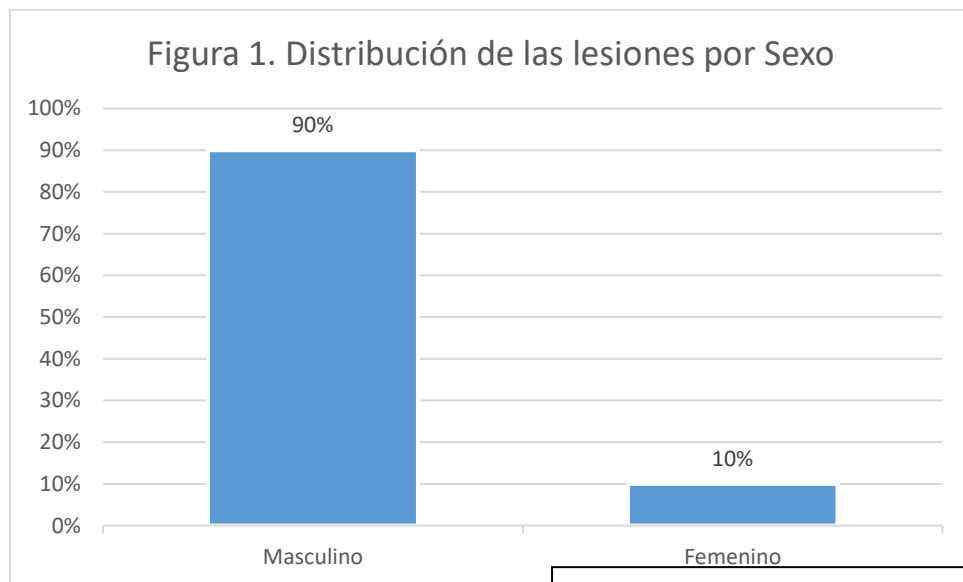
Muestra	Marginación	Congestión	Neutrófilos	Edema	Hemorragia
T 01 19					
T 02 19					
T 03 19					
T 04 19					
T 05 19					
T 06 19					
T 07 19					
T 08 19					
T 09 10					
T 10 19					
T 11 19					
T 12 19					
T 13 19					
T 14 19					
T 15 19					
T 16 19					
T 17 19					
T 18 19					
T 19 19					
T 20 19					
T 21 19					
T 22 19					
T 23 19					
T 24 19					
T 25 19					
T 26 19					
T 27 19					
T 28 19					
T 29 19					
T 30 19					

Resultados

Del 1° de diciembre de 2018 al 30 de abril del 2019 se llevó a cabo la recolección de 32 biopsias de sujetos con heridas contusas localizadas en la piel cabelluda, los cuales acudieron a solicitar atención médica al servicio de urgencias al hospital general de Xoco.

Del total de las muestras, dos fueron excluidas del estudio debido a que los individuos donantes son portadores de enfermedades crónico degenerativas y, además, consumen medicamentos que afectan directamente al proceso inflamatorio, siendo ambos rubros criterios de exclusión para este estudio.

Del total de las muestras, 27 pertenecen a individuos del sexo masculino, lo que corresponde al 90% del total y únicamente 3 piezas de estudio fueron obtenidas de individuos del sexo femenino, lo que equivale al 10%. (Ver figura 1)

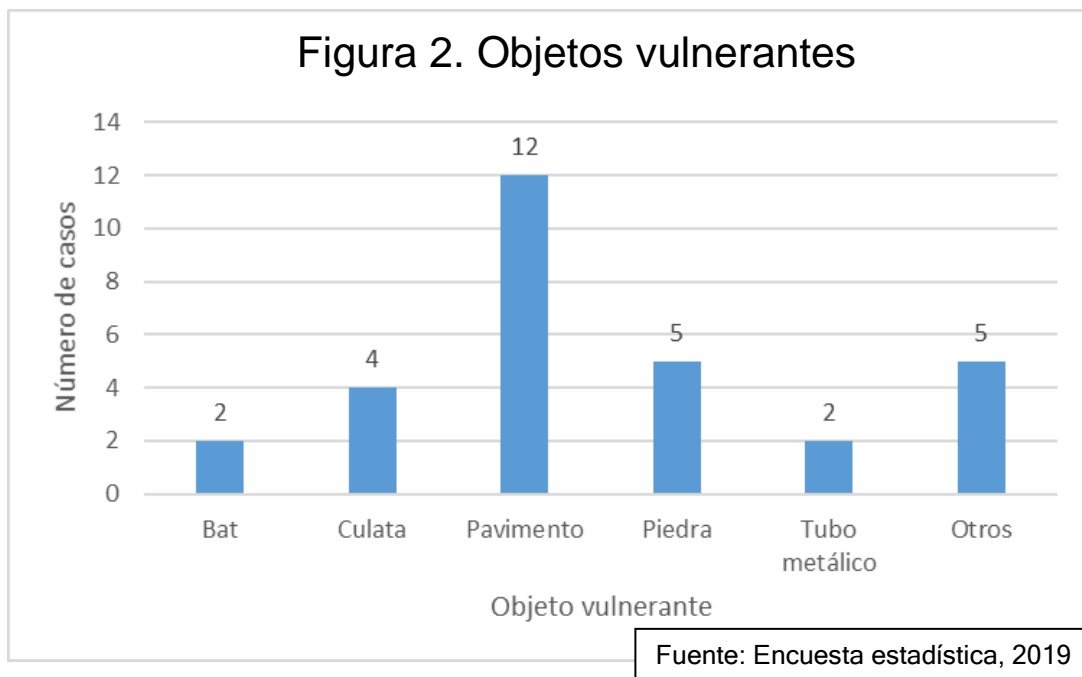


La edad de los individuos oscila entre 19 y 85 años, con un promedio de 35.6 años, la mediana fue de 29 años.

Así mismo, el tiempo entre la producción de la lesión y la toma de la biopsia (también denominada edad de la lesión), se establece entre 30 minutos a 24

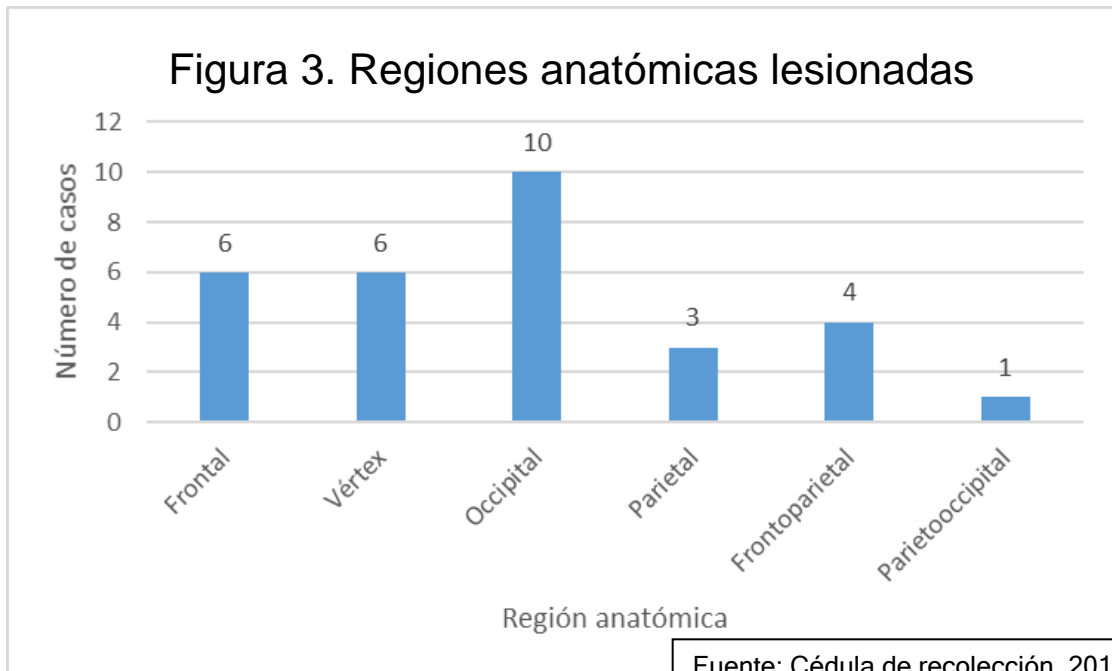
horas, con un total de 207.51 horas, una media de 6.9 horas, la mediana en éste rubro, fue de 4.

Los objetos vulnerantes en éste caso, fueron diversos, siendo el mayor en frecuencia el pavimento, con una frecuencia de 12 casos y un porcentaje de 40%, en segundo lugar, se encuentran los objetos diversos, denominado “otros” (en donde se incluye un palo, azulejo, contusión con otro cráneo, golpe con un canto de la ventana, golpe con una cortina metálica de puesto), y piedras, ambas con una frecuencia de 5 casos, representando el 16.6%, les sigue en tercer lugar las culatas de pistola, con 4 casos, siendo 13.33%; finalmente, el bat, relacionado con 2 eventos y representando así el 6.6% del total. Los resultados descritos se muestran en la figura 2.



Respecto a las regiones lesionadas, surgieron distintos sitios, siendo el principal la región occipital, con 10 casos, representando un 33.3% del total, seguida por las regiones frontal y el vértex, con 6, formando parte del 20% del total cada

una, ambas a su vez, seguidas por la región frontoparietal, con 4 casos, siendo un 13.3%. Todo esto se puede apreciar en la figura número 3.



A nivel microscópico, 100 % de las biopsias presentaron neutrófilos en espacio extravascular. (Ver figura 4). De éstas muestras, 15 presentaron un infiltrado leve (+), representando el 50% del total, 8 se presentaron con infiltrado moderado (++), siendo el 26.6%, mientras que 7 piezas se cuantificaron como infiltrado severo (+++), representando el 23.3% de las biopsias. (Ver tabla I)

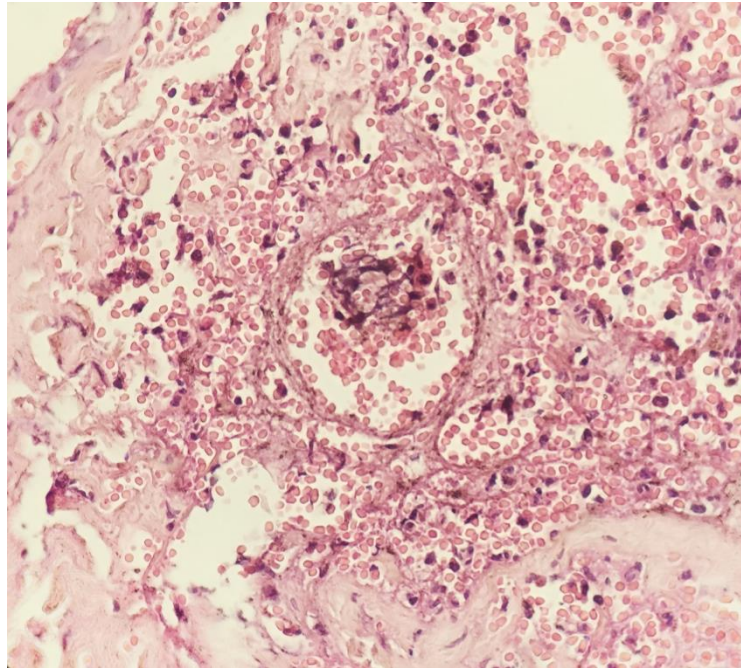


Figura 4. Vaso sanguíneo con presencia de infiltrado inflamatorio, congestión y hemorragia. Aumento a 40x

Tabla I. Frecuencia de Infiltrado Inflamatorio por horario

Horas transcurridas	Leve	Moderado	Severo
0:00 a 3:00 horas	7	3	1
3:01 a 6:00 horas	4	2	3
6:01 a 9:00 horas			2
09:01 a 12:00 horas			1
12:01 a 15:00 horas	1	2	
15:01 a 18:00 horas	1		
18:01 a 21:00 horas	1		
21:01 a 24:00 horas	1	1	
Total	15	8	7

Fuente: Encuesta estadística, 2019

Así mismo, el 100% de las biopsias presentaron edema. (Ver figura 5) Se encontró edema leve (+) en 13 de las mismas, es decir, el 43.3%, edema moderado (++) en 12 biopsias, siendo el 40% y severo (+++), en 5 de ellas, lo cual se traduce en un 16.6% del total. (Tabla II)

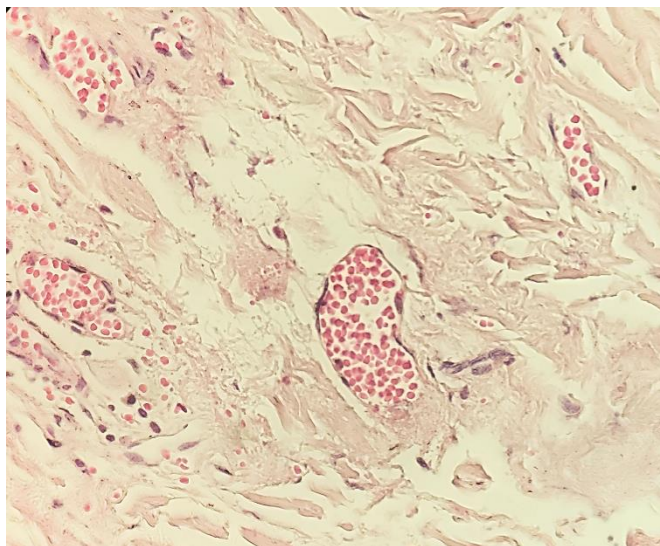


Figura 5. Vasos en corte transversal con congestión y marginación. Se aprecia edema a nivel tisular. Aumento 40 x

Tabla II. Frecuencia y severidad del edema por horario

Horas transcurridas	Leve	Moderado	Severo
0:00 a 3:00 horas	7	6	1
3:01 a 6:00 horas	2	3	
6:01 a 9:00 horas		2	1
09:01 a 12:00 horas		1	
12:01 a 15:00 horas	2		1
15:01 a 18:00 horas			1
18:01 a 21:00 horas	1		
21:01 a 24:00 horas	1		1
Total	13	12	5

Fuente: Encuesta estadística, 2019

Respecto a la presencia de hemorragia, 29 biopsias presentaron extravasación de eritrocitos, siendo el 96.6% del total, mientras que 1 de las biopsias no presentó extravasación de los mismos, representando así el 3.3% del total. (Ver figura 6) En éste caso, se encontró hemorragia leve (+), en 19 biopsias, siendo el 65.5% del total, mientras que la hemorragia moderada (++), fue detectada en 6 de éstas, representando un 20.6%; finalmente, la hemorragia severa (+++) fue contada en 4 ocasiones, es decir, un 13.7%. (Ver tabla III)

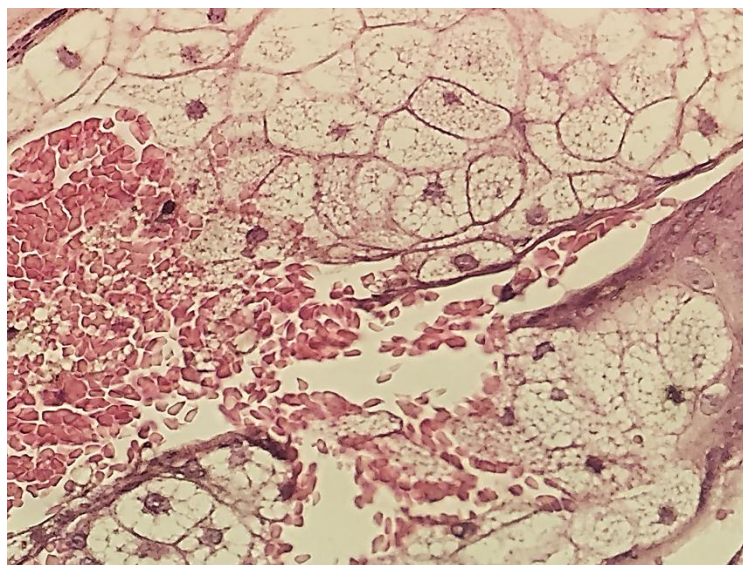


Figura 6. Vaso sanguíneo roto con extravasación de eritrocitos (Hemorragia). Aumento 40x

Tabla III. Frecuencia y severidad de la hemorragia por horario

Horas transcurridas	Leve	Moderado	Severo
0:00 a 3:00 horas	7	1	3
3:01 a 6:00 horas	5	2	1
6:01 a 9:00 horas	1	1	
09:01 a 12:00 horas		1	
12:01 a 15:00 horas	3		
15:01 a 18:00 horas	1		
18:01 a 21:00 horas			
21:01 a 24:00 horas	2	1	
Total	19	6	4

Fuente: Encuesta estadística, 2019

Por otra parte, 29 biopsias presentaron el fenómeno de marginación de neutrófilos, representando el 96.6% del total en el estudio, mientras que solamente 1 biopsia no lo presentó, siendo el 3.3% del total. (Ver figuras 7, 8 y 9)

Respecto al fenómeno de congestión, éste se presentó en 24 biopsias, siendo un 80% del total, mientras que 6 de ellas no mostraron éste fenómeno, arrojando como resultado el 20% del total de las mismas. (Ver figuras 7, 8 y 10)

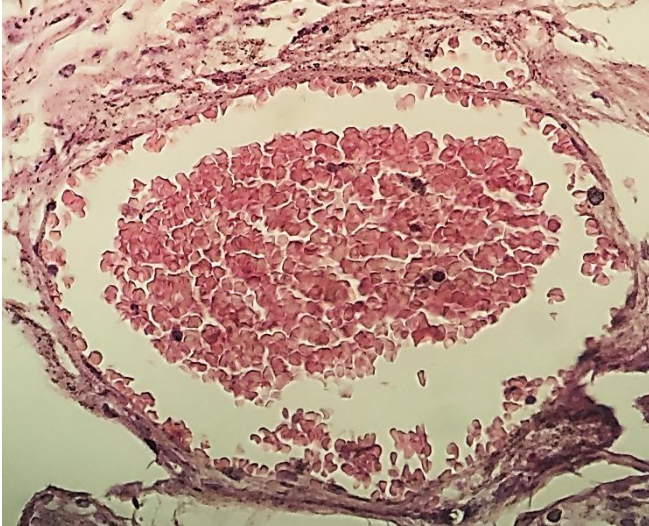


Figura 7. Vaso sanguíneo lleno de eritrocitos (congestión) y fenómeno de marginación. Corte transversal. Aumento a 40x

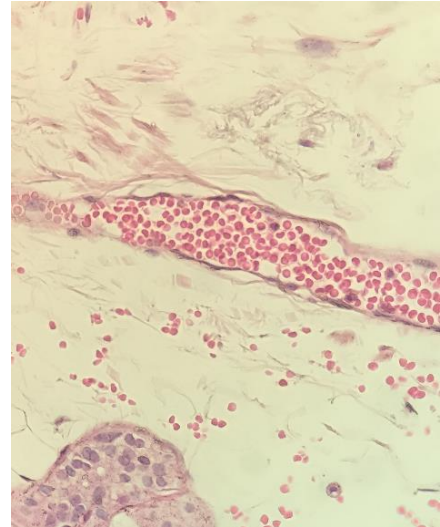
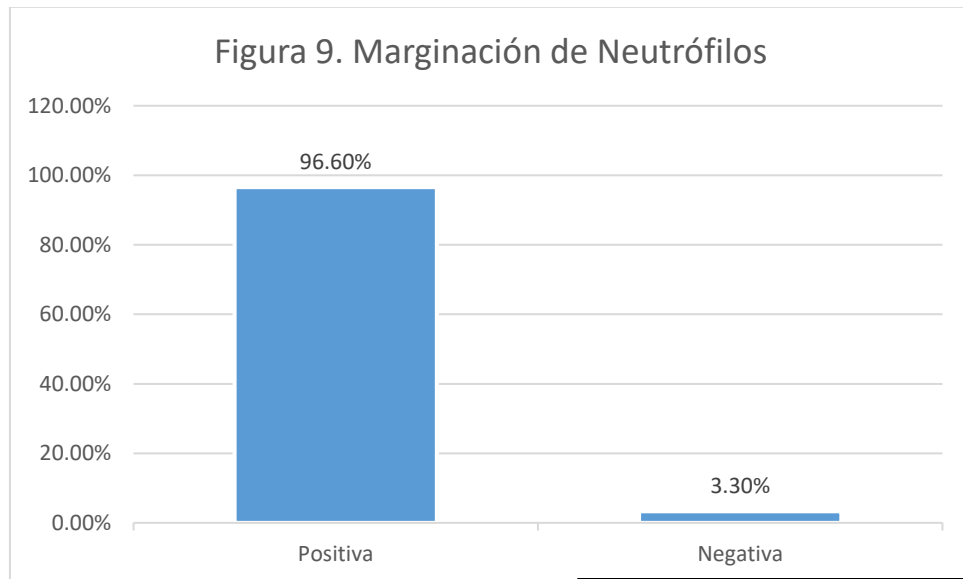
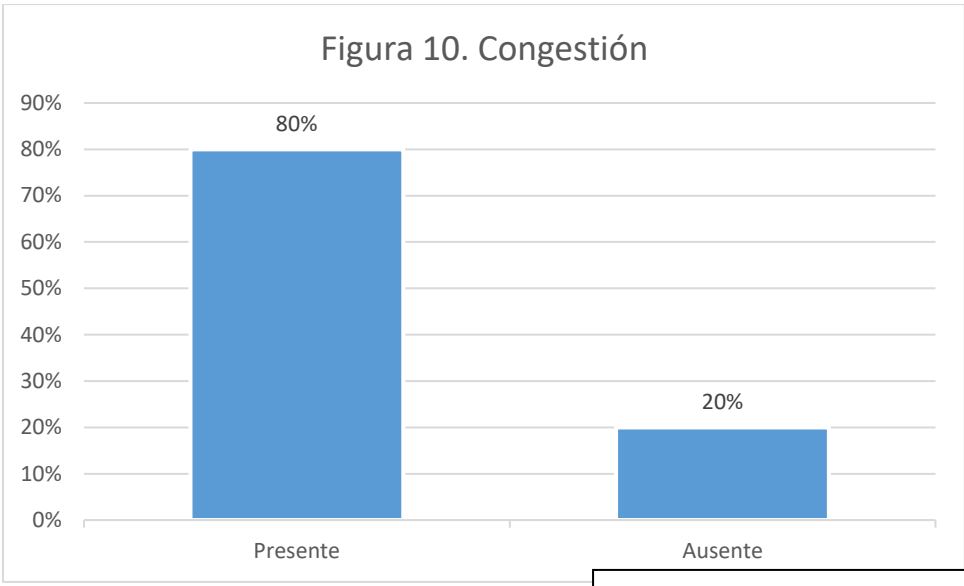


Figura 8. Vaso sanguíneo lleno de eritrocitos (congestión) y fenómeno de marginación. Corte longitudinal. Visto a 40x



Fuente: Encuesta estadística, 2019



Fuente: Encuesta estadística, 2019

Discusión

De éste estudio se desprende que la relación de prevalencia entre hombres y mujeres es de 9 a 1, es decir que de cada diez personas que sufre lesiones tales como heridas contusas, nueve son hombres y una es mujer. La Guía de práctica clínica “Intervenciones de enfermería para la atención inicial de pacientes con traumatismo craneoencefálico grave en urgencias”²⁴, en su actualización del año 2018, refiere que la relación entre hombres y mujeres es de 3:1, lo cual no coincide con nuestra casuística. Por otra parte, refiere que las principales causas son los accidentes de tráfico con un 75% de la incidencia aproximadamente, afectando principalmente a menores de 25 años, motociclistas, y personas que manejan en estado de ebriedad.

Respecto a la edad, el rango fue muy amplio, siendo el individuo de menor edad, de 19 años, mientras que el sujeto de mayor edad, fue de 85 años, respecto a éste resultado, se infiere que a cualquier edad es posible sufrir una herida contusa.

Las biopsias fueron obtenidas de diversas partes de la piel cabelluda, principalmente la región occipital. Es importante aclarar que no existe un estudio de éste tipo específico para piel cabelluda, lo cual es de tomar en cuenta debido a la irrigación tan prolífica de la zona, lo cual favorece la hemorragia y la pronta llegada de neutrófilos al sitio de la lesión.

Por otra parte, los objetos vulnerantes, fueron diversos, siendo el más referido el pavimento (caída de su propio plano de sustentación), éstos casos fueron los de aquellos pacientes que acudieron al servicio de urgencias en estado etílico.

Los estudios de Ross y Odland, de 1968 y de Fronczek y cols. Del 2015 refieren la aparición de neutrófilos en todos los casos estudiados.^{25, 26}En éste estudio, la casuística de la infiltración inflamatoria fue de 100%, lo cual confirma lo especificado en ambos trabajos.

El infiltrado inflamatorio en el espacio extravascular se aprecia a partir de los 30 minutos posteriores a la producción de la herida (la lesión más joven presente en el estudio) y siguió presente en todas las lesiones, inclusive en las de mayor edad (Nuestra lesión más vieja fue de 24 horas), sin embargo, la severidad no pudo ser correlacionada con la edad de la lesión, ya que se apreció infiltrado inflamatorio en diversos grados de severidad en lesiones de distintas edades.

Igualmente, si bien hubo presencia de edema en el 100% de las lesiones, no fue posible llevar a cabo una correlación de la severidad respecto al tiempo transcurrido posterior a la producción de la lesión. Lo mismo podemos decir para la hemorragia.

Los fenómenos de marginación y congestión fueron los más variables, ya que el primero no se presentó solamente en una muestra, mientras que en el resto si estuvo presente. Por otra parte, la congestión se mostró en 24 biopsias (el 80%), mientras que en 6 (20% de las mismas), no fue posible apreciarla, a pesar de que si se localizaron eritrocitos extravasados. Es importante recordar que ambos fenómenos se presentan gracias a la liberación de mediadores químicos de la inflamación.

Conclusiones

Hasta lo especificado en ésta tesis, se logró nuestro objetivo de hallar elementos que nos permiten determinar la cronología de una lesión. Sin embargo, se considera recomendable realizar estudios a mayor escala y con un mayor control de variables, siempre considerando que existen algunas que no pueden ser vigiladas de manera exacta, debido a la variación biológica entre individuos. Sin embargo, se corroboró la presencia extravascular de neutrófilos así como la aparición de edema, congestión y hemorragia, es decir, que fue posible comprobar la presencia del inicio de la inflamación en presencia de heridas contusas.

Durante la realización del estudio, se encontraron solamente dos artículos^{25, 26} en los cuales se estudian las lesiones de sujetos con vida, lo cual es un indicador importante de que es necesario ampliar la investigación, puesto que, si bien la mayor parte de los autores coinciden en sus descripciones la mayor parte de los estudios son realizados en animales de laboratorio y en sujetos fallecidos, en los cuales, si bien se intenta extrapolar los resultados al ser humano con vida, los resultados pueden no ser tan acertados, debido en ésta ocasión a las diferencias fisiológicas entre especies, en el caso de modelos animales, y a la dificultad de controlar las variables que de por sí ya es complicado obtener de manera confiable en sujetos vivos, en el caso de estudios de ejemplares de autopsia.

Un dato muy importante es que no existe una escala cuantitativa para determinar el grado de severidad tanto del infiltrado inflamatorio, como de hemorragia y edema, por lo cual, es posible la existencia de variaciones en la

calificación de acuerdo al criterio de cada observador, de ésta manera, se reafirma la necesidad de una escala universal que permita la unificación de criterios.

Así mismo, al realizar éste trabajo, se recabaron datos importantes, como la prevalencia entre sexos, la cual es mucho mayor en hombres que en mujeres, así como los principales objetos vulnerantes, en éste caso, el pavimento fue el primer lugar, abriendo también la posibilidad de realizar un estudio epidemiológico en un futuro.

Recomendaciones

1. Desarrollar proyectos de investigación con un mayor número de muestras de individuos vivos para estudiar los cambios histológicos que se presentan en las lesiones. Mientras más se amplíen los estudios respecto a éste tema, será más factible unificar criterios a nivel internacional.
2. Desarrollar una escala universal que clasifique los grados de infiltración, edema y hemorragia de manera cuantitativa, bajo la salvedad de que se requieren estudios a mayor escala y con mayor control de las posibles variables que no fueron tomadas en cuenta en éste estudio. De ésta manera, será posible reducir al mínimo las variaciones interobservador, obteniendo una mayor exactitud al momento de establecer la edad de una lesión.

Glosario

Aminopeptidasa: Miembro de un grupo de enzimas del intestino delgado que hidrolizan los enlaces peptídicos que poseen un grupo amino libre.

Anafilactoide: Semejante a la anafilaxia

Anafilotoxina: En anafilaxis, sustancia tóxica

Caspasa: Proteínas clave en la transducción y ejecución de la señal apoptótica inducida por una diversidad de estímulos. Se encuentran en la célula como precursores inactivos que necesitan ser cortados para iniciar su actividad.

Catepsina: Proteínasa que interviene en la autólisis y autodigestión de los mismos.

Cisteína: Aminoácido procedente de la desintegración de proteínas. Se convierte fácilmente en cistina.

Corpúsculo de Weibel-Palade: Gránulos de almacenamiento que se encuentran en las células endoteliales. Su función consiste principalmente en almacenar y liberar dos moléculas, el factor von Willebrand y la P-selectina, por lo que participan de forma activa en la hemostasia y la inflamación.

Contusión: Traumatismo producido por un objeto romo (sin filo), cuyo mecanismo de acción es la percusión, la presión, la fricción y la tracción.

Daño: Detrimento o menoscabo que por acción de otro se recibe en la persona o en los bienes.

Desmosoma: Engrosamiento en el centro de un puente intercelular

Eleidina: Sustancia oleosa semejante a la queratina, que se encuentra en las células del estrato lúcido de la epidermis.

Endotelina: Potentes agentes presores endógenos, secretadas por diferentes tejidos y células del organismo. De las tres isoformas, la ET-1 es sintetizada predominantemente por el endotelio vascular. La ET-1 induce vasoconstricción, es proinflamatoria, profibrosis y tiene acción potencialmente mitógena. Es un importante factor en la regulación del tono vascular y participa en la remodelación vascular. Estos efectos son mediados a través de dos tipos de receptores, ET_A y ET_B.

Esterasa: Enzima que cataliza la hidrólisis de un éster en alcohol y ácido.

Fibrinopéptido: Producto de la acción de la trombina sobre el fibrinógeno, liberándose de este modo los fibrinopéptidos A y B, y dando lugar, la masa molecular restante, a los monómeros de la fibrina.

Fibronectina: Glucoproteína dimérica con un peso molecular de 2.220 KD, que migra en la fracción de las beta-globulinas plasmáticas. Está presente en el plasma y en la superficie de células epiteliales y endoteliales, de los hepatocitos y los macrófagos, y es un componente importante de la sustancia fundamental intercelular.

Fosfatasa ácida: Enzima que hidroliza los ésteres monofosfóricos con liberación de ácido fosfórico. Se encuentra en todos los líquidos del organismo.

Fosfatasa alcalina: Producida por los osteoblastos y células proliferativas del cartílago y el periostio; interviene en: 1, la precipitación del fosfato cálcico en los huesos; 2, la absorción de fosfatos por el intestino; 3, la síntesis de las proteínas hísticas y la hidrólisis de los ésteres fosfáticos del riñón e hígado con liberación de glucosa, que pasa a la sangre.

Hemidesmosoma: Complejo de unión, equivalente a la mitad de un desmosoma, situado en el plasmalema basal de ciertos epitelios estratificados.

Herida: Daño a cualquier parte del cuerpo debido a la aplicación de fuerza mecánica, otros autores la definen como desbalance o pérdida de estructuras de la piel o mucosas debido a numerosas razones, las cuales conducen a una pérdida temporal o permanente de sus características fisiológicas inherentes.

Hialuronidasa: Enzima, polisacarasa, que existe en el esperma, en venenos animales y en ciertas bacterias patógenas, las cuales desintegran el ácido hialurónico en las barreras polisacáridas protectoras y permite la invasión rápida y difusa por el agente patógeno.

Hidrolasa: Miembro de un grupo de enzimas que catalizan la escisión de los enlaces entre el carbono y otro tipo de átomo, por adición de agua. Entre las hidrolasas se incluyen enzimas que atacan o escinden los enlaces de tipo éster: esterasa; péptido: peptidasa; glucosídico: glucosidasas.

Inmunofluorescencia: Prueba inmunológica en la cual un antígeno o anticuerpo determinado se conjuga con un anticuerpo determinado se conjuga con un colorante fluorescente, lo que permite localizar su fijación con el anticuerpo o antígeno correspondiente en las células o productos biológicos del organismo.

Integrinas: Familia de glicoproteínas de la membrana celular, heterodímeros de dos subunidades, la cadena alfa y beta. Constituyen receptores de glicoproteínas de la matriz extracelular, entre las que se encuentran fibronectina, C3, LFA-1, etc.

Participan en la curación de heridas, migración celular y fagocitosis. Las diferencias en la cadena beta permite dividir a las integrinas en tres categorías: la subfamilia β -1, formada por los antígenos VLA (v.), la subfamilia β -2, formada por LFA-1 (v.), el receptor del complemento 3, y p150,95, y la subfamilia β -3, constituida por la glicoproteína IIb/IIIa y el receptor de la vitronectina.

Interleucinas: Conjunto de citocinas (proteínas que actúan como mensajeros químicos a corta distancia) que son sintetizadas principalmente por los leucocitos, aunque en algunos casos también pueden intervenir células endoteliales o del estroma del timo o de la médula ósea. Su principal función es regular los eventos que atañen a las funciones de estas poblaciones de células del sistema inmunitario, como la activación, diferenciación o proliferación, la secreción de anticuerpos, la quimiotaxis, regulación de otras citocinas y factores, entre otras.

Lactoferrina: glicoproteína multifuncional que presenta la capacidad de unir hierro. Una de las funciones primordiales de la Lf es el transporte de metales. También actúa como proteína de defensa no específica. La Lf se encuentra en di-versas secreciones mucosas como la leche, las lágrimas y la saliva. También es un componente abundante de los neutrófilos y puede ser liberada al plasma sanguíneo por la acción de éstos.

Lectina: Grupo de proteínas de origen no inmune que están presentes en la mayoría de los seres vivos, tanto en el reino animal, vegetal y en microorganismos como bacterias, protozoarios y virus su importancia principal radica en sus propiedades biológicas, en la aglutinación de eritrocitos y otras

células como Linfocitos, plaquetas, en la inducción de mitosis y efectos citotóxicos sobre los linfocitos y aglutinación de virus.

Lesión: Desde el punto de vista médico, se considera sinónimo de traumatismo; en el ámbito jurídico, se trata de un daño en el cuerpo o en la salud, sin el ánimo de matar.

Lipopolisacárido: El lipopolisacárido (LPS) o endotoxina es el mayor componente de la membrana externa de las bacterias Gram negativas, desempeñan una importante función en la activación del sistema inmune al constituir el antígeno superficial más importante de este tipo de bacterias.

Metaloproteinasa: Enzima que desdobla las proteínas con un elemento metálico.

Mieloperoxidasa: Enzima presente en los fagosomas de los neutrófilos y de los monocitos. Es responsable de la actividad microbicida contra un amplio espectro de organismos.

Noxa: Cualquier agente del medio ambiente que actúa sobre el organismo afectando su salud. Es cualquier agente etiológico o biológico que un organismo no reconoce como propio.

Opsoninas: Anticuerpo u otro componente del suero que cuando se combina con un antígeno particulado, como una bacteria, los hace más fácilmente fagocitable.

Opsonización: Proceso por el cual un antígeno particulado se combina con las opsoninas para hacerlo más asequible a la fagocitosis.

Peroxidasa: Tipo de enzima que cataliza la oxidación de un compuesto a expensas del peróxido de hidrógeno y no del oxígeno. El compuesto oxidado actúa como donador de hidrógeno.

Pepsinógeno: Cimógeno de las glándulas gástricas, que se convierte en pepsina por acción del ácido clorhídrico.

Prostanoide: Productos de las acciones secuenciales de la enzima ciclooxigenasa (COX), a partir del ácido araquidónico (AA). Entre estos se encuentran la prostaglandina D₂ (PGD₂), la prostaglandina F_{2α}(PGF_{2α}), la prostaglandina E₂ (PGE₂), la prostaciclina o prostaglandina I₂(PGI₂), y el tromboxano A₂ (TXA₂). Los prostanoideos en general son considerados autacoides, o sea sustancias endógenas con actividad biológica que actúan a distancias relativamente cortas de su lugar de síntesis, vale decir con acción para-crina. Esta característica deriva de su reducida vida media, por lo que son degradadas rápidamente, sin darles de ese modo tiempo para ser transportadas por el torrente sanguíneo a lugares más alejados del organismo, como sucede con las hormonas.

Proteasa de serina: Hidrolasas que degradan enlaces peptídicos de péptidos y proteínas y que poseen en su centro activo un aminoácido serina esencial para la catálisis enzimática.

Protooncogenes: Genes cuyos productos promueven el crecimiento y la división celular. Codifican factores de transcripción que estimulan la expresión de otros genes, moléculas de transducción de señales que estimulan la división

celular y reguladores del ciclo celular, que hacen que la célula progrese a través de este ciclo.

Queratohialina: Sustancia córnea de las células del estrato granuloso de la piel.

Quimiocina: Sustancia que favorece el proceso de quimiotaxis.

Quimiotaxis: Tendencia de las células a moverse en dirección determinada por la influencia de estímulos químicos, calificada de positiva o negativa, según dicha sustancia atraiga o rechace las células.

Selectina: Receptores de adhesión que forman una familia de glucoproteínas integrales de la membrana, que pueden formar uniones hetero y homotípicas, transitorias y específicas. Se caracterizan por poseer una estructura muy conservada, la cual incluye a un dominio tipo lectina, un dominio tipo factor de crecimiento epidérmico, dos o más dominios tipo proteína reguladora del complemento, una región transmembranal y una región intracitoplásmica corta en el extremo carboxilo terminal. Interactúan con las sialomucinas en el proceso de extravasación leucocitaria.

Sintasa: Enzima que cataliza una reacción de síntesis, en la que se unen dos unidades sin la participación directa del ATP u otro nucleótido trifosfato.

Taquicinina: Neuromoduladores conformados de aminoácidos de cadena corta que se encuentran en anfibios y mamíferos y que comparten la secuencia común de aminoácidos carboxilo terminal: Gli-Leu-Met-NH

Tonofilamento: Filamento proteico citoplasmático, que forma parte del citoesqueleto o esqueleto celular, más desarrollado en algunos tipos celulares

(p. ej. en los estratoespinos de la epidermis), encargado de mantener la forma y dar resistencia a las células.

Trauma: Violencia exterior que actúa sobre el cuerpo humano, mismo que puede clasificarse en cuatro categorías a saber: Mecánico, térmico, eléctrico y químico. Para efectos del tema a tratar, solamente nos referiremos al trauma mecánico.

Traumatismo: Alteración anatómica o funcional que dicha violencia causa en el organismo.

Trancitosis: Es el transporte de materiales desde un lado del espacio extracelular al otro lado.

Urocinasa: Sustancia estimulante de la fibrinólisis, que se encuentra en la orina humana.

Referencias bibliográficas

1. Vargas Alvarado E. Contusiones. En: Traumatología Forense, 2da ed, México: Trillas; 2017. P. 33-63
2. Sauko P, Knight B. The pathology of wounds. Dating. En: Knight's Forensic pathology. 3rd ed. London: Arnold; 2004. p. 136-73.
3. Patitó JA., Lossetti OA., Guzmán C., Trezza FC., Stinfo RN. Tratado de medicina legal y elementos de patología forense, Argentina: Quorum; 2003.
4. Gisbert Calabuig JA. Contusiones. En: Medicina Legal y Toxicología, 6ta ed. España: Elsevier Mosby; 2004. p. 360-370.
5. Vargas Alvarado E. Lesiones. En: Traumatología Forense, 2da ed, México: Trillas; 2017. P. 11-32
6. Di Maio VJ, Di Maio D. Blunt trauma wounds. En: Forensic Pathology, 2da ed. Florida: CRC press; 2001. P. 88-113
7. Hernández Cueto C. Diagnóstico diferencial entre lesiones vitales y posmortales. En: Medicina Legal y Toxicología, 6ta ed. España: Elsevier Mosby; 2004. p. 351-359.
8. Oenmichen M. Vitality and time course of wounds. Forensic Sci Int. 2004;144:221- 231. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.04.057>
9. Kondo T. Timing of skin wounds. Leg Med. 2007;9(2):109-114. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2006.11.009>
10. Vitality of an Injury or SkinWound. En: Forensic Histopathology. Fundaments and perspectives. Dettmeyer, 2ª. ed, Alemania: Springer; 2018. P. 244-245

11. Kimura A, Ishida Y, Nosaka M, Shiraki M, Hama M, Kawaguchi T, Et. Al. Autophagy in skin wounds: a novel marker for vital reactions. *Int J Legal Med.* 2015;129(3):537-541. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1168-4>
12. Raekallio J. Histological estimation of the age of injuries. En: *Microscopic diagnosis in forensic pathology.* Illinois: Bannerstone House. 1980. P. 3-16.
13. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Inflamación y reparación. En: *Patología estructural y funcional.* Robbins. 9ª ed. Madrid: Elsevier; 2013. P. 29-73
14. Franklin RW, Korkmaz HI, Fronczek J, Witte BI, Visser R, Ulrich MMW, Et. Al. A new method to determine wound age in early vital skin injuries: A probability scoring system using expression levels of Fibronectin, CD62p and Factor VIII in wound Hemorrhage. *Forensic Sci Int.* 2014; 244:128-135. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.08.015>
15. Casse JM, Martrille L, Vignaud JM, Gauchotte G. Skin wounds vitality markers in forensic pathology: an updated review. *Med Sci Law OnlineFirst (Internet).* 2016 (Citado 16 de Octubre de 2018); 56:128–37. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26101444>
16. Abo El-Noor MM, Elgazzar FM, Alshenawy HA. Role of inducible nitric oxide synthase and interleukin-6 expression in estimation of skin burn age and vitality. *J Forensic Leg Med.* 2017;52:148-153. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.09.001>

17. Betz P. Histological and enzyme histochemical parameters for the age estimation of human skin wounds. *Int J Leg Med.* 107 (1994) 60-68.
18. Cabrerizo Medina E, Villanueva de la Torre H, Salguero Villadiego M. Estudio histopatológico de la evolución temporal de las lesiones. *Cuad Med Forense* 2015; 21(3-4):127-134.
19. Betz P. Histological and enzyme histochemical parameters for the age estimation of human skin wounds. *Int J Leg Med.* 107 (1994) 60-68.
20. Birincioğlu İ, Akbaba M, Alver A, Kul S, Özer E, Turan N, Şentürk A, Et. Al. Determination of skin wound age by using cytokines as potential markers. *J Forensic Leg Med.* 2016
21. Kostadinova-Petrova I., Mitevska E., Janeska B., Histological Characteristics of Bruises With Different Age. *Open Access Maced J Med Sci.* 2017; 5(7): 813- 817. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2017.207>
22. Murphy SH. Inflamación. En: *Patología. Fundamentos clinicopatológicos en medicina de Rubin.* 6ta ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 2012. P. 47-82.
23. Genesser F. Sangre. En: *Histología.* Genesser, 3^a. ed, México: Panamericana; 2000. P. 235-256
24. Guía de Práctica Clínica “Intervenciones de enfermería para la atención inicial de pacientes con traumatismo craneoencefálico grave en urgencias” Actualización 2018.

25. Ross R, Odland G. Human wound repair II. Inflammatory cells, epithelial – mesenchymal interrelations, and fibrogenesis. *J Cell Biol*, 39:135-151, 1968.
26. Fronczek J, Lulf R, Korkmaz HI, Witte BI, Franklin RW, Begieneman M, Et. Al. Analysis of inflammatory cells and mediators in skin wounds biopsies to determine wound age in living subjects in forensic medicine. *Forensic Sci Int*. 2015; 247:7-13.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.11.014>