



# Università degli Studi di Padova

Corso di laurea in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari  
e Sanità Pubblica

Direttore: Prof. Federico Rea

Sede di Medicina Legale

TESI DI LAUREA

## Studio radiologico di lesioni traumatiche delle alte vie respiratorie. Analisi di casistica autoptica-forense.

Relatore: Prof. Giovanni Cecchetto

Correlatore: Dott. Federico Toselli

Laureando: Angelo Laterza

Anno Accademico 2021/2022



# ***Indice***

<b>Riassunto .....</b>	<b>1</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>2</b>
<b>Introduzione.....</b>	<b>3</b>
Lesioni traumatiche delle vie aeree superiori.....	3
La radiologia nella pratica forense.....	5
L'uso di PMCT, RMI e micro-TC applicato alle vie aeree superiori .....	5
<b>Scopo dello studio .....</b>	<b>8</b>
<b>Materiali e metodi.....</b>	<b>9</b>
Campione Casistico .....	9
Raccolta del campione .....	9
Analisi macroscopica dei campioni .....	9
Acquisizione dei dati e dell'immagine radiologica.....	9
Colorazione con Lugol forte .....	10
Seconda acquisizione alla micro-TC.....	11
Ricostruzione 3D su CTvox.....	11
PMFP .....	11
Parametri analizzati .....	12
<b>Risultati.....</b>	<b>14</b>
Analisi macroscopica.....	14
Ricostruzione tridimensionale micro-TC.....	16
Ricostruzione tridimensionale micro-TC (post Lugol).....	18
Esecuzione PFMP .....	19
Comparazione dei risultati.....	21
Casi esemplificativi.....	23
Caso 1.....	23
Caso 2.....	26
Caso 3.....	29
<b>Discussione.....</b>	<b>33</b>
Micro-TC pre e post-Lugol: due facce della stessa medaglia.....	33
Micro-TC a confronto con l'analisi macroscopica.....	35
Confronto acquisizioni micro-radiologiche con il <i>gold standard</i> (PMFP) .....	36
Micro-TC (vantaggi, limiti, prospettive future).....	38
<b>Conclusioni.....</b>	<b>40</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>41</b>



## **Riassunto**

**Introduzione.** Le vie aeree superiori possono essere interessate da numerose lesioni di interesse medico-legale. Sebbene l'uso di tecniche radiologiche in ambito forense sia sempre più utilizzato, ad oggi la post-mortem fine preparation (PMFP) risulta il *gold standard* per lo studio delle lesività delle vie aeree superiori.

**Obiettivi.** Valutare vantaggi e limiti dell'analisi micro-radiologica nel riconoscimento dell'anatomia e delle lesioni patologiche delle alte vie aeree superiori, confrontando i risultati ottenuti con la micro-TC e quelli dell'autopsia standard e della PMFP.

**Materiali e metodi.** Sono stati studiati campioni ioido-laringo-tracheali con sospetta lesione traumatica alle vie aeree superiori provenienti da casistica autoptica. I campioni prelevati e fissati in formalina, sono stati analizzati macroscopicamente e successivamente acquisiti in micro-TC. La stessa metodica radiologica è stata ripetuta dopo aver trattato i campioni con una soluzione acquosa a base di Lugol. Infine, si è proceduto all'esecuzione della PMFP. In ogni fase, si è proceduto a compilare una checklist per il *recording* delle strutture anatomiche e delle lesività riscontrate.

**Risultati.** Sono state analizzati 10 complessi ioido-laringo-tracheali. Le immagini ottenute da micro-TC basale hanno mostrato un'ottima capacità della metodica micro-radiologica nel rilevare l'anatomia e le lesività nel distretto osteocartilagineo. L'uso del Lugol ha permesso invece una maggiore *detectability* delle strutture tracheali e dei tessuti molli.

**Conclusioni.** La micro-TC (combinando le acquisizioni pre- e post-utilizzo di soluzione acquosa a base di Lugol) si è dimostrata inferiore al *gold standard*, pur ottenendo ottimi risultati, soprattutto per l'analisi di strutture osteocartilaginee. Dal momento che le tecniche micro-radiologiche possono apportare numerosi vantaggi alla pratica forense, sarebbe opportuno impostare un protocollo di acquisizione e analisi dei campioni che integri autopsia e micro-radiologia, anche al fine di condurre ulteriori studi di validazione della metodica.

## ***Abstract***

**Background.** In forensic traumatology upper airways can be affected by various injuries. Radiology is becoming widely employed in forensic practice, even if post-mortem fine preparation (PMFP) is currently the *gold standard* technique employed for the assessment of the injuries to the upper airways.

**Purpose.** Aim of this study is to evaluate the performance of micro-radiological analysis in the assessment of anatomy and injuries to the upper airways, comparing the results achieved by micro-CT scans with the ones obtained through standard autopsy, as well as PMFP.

**Materials and methods.** Hyoid-laryngo-tracheal samples with suspected traumatic injury to the upper airways, obtained through autoptic records, were examined. These samples were excised, then fixed with formaline; photographs were taken while examining the samples macroscopically. Right after, specimens underwent micro-CT scan. Therefore, samples were processed with a Lugol-based aqueous solution. Eventually, PMFP was performed. For each of these phases, a checklist was filled out to record the observability of anatomical structures and injuries.

**Results:** Ten hyoid-laryngo-tracheal samples has been analyzed. CT-scans in basal conditions showed remarkable capacity in the assessment of anatomy and injuries to the osteocartilaginous structures. The application of Lugol-based solution enhanced the detectability of tracheal structures and soft tissues.

**Conclusions:** Despite the good results achieved for osteocartilaginous structures, micro-CT proved to be inferior to the current *gold standard*. Considering the possible advantages to the forensic practice, it would be appropriate to perform further studies combining autopsy along with micro-radiological techniques, in order to achieve a future forensic validation.

## ***Introduzione***

### **Lesioni traumatiche delle vie aeree superiori**

Le lesioni traumatiche sono tutt'oggi un'importante causa di mortalità a livello mondiale [1]. Ponendo l'accento sulle vie aeree superiori, si vede come a questo livello si possono verificare numerose lesioni mortali di interesse medico-legale. Le più rilevanti sono sicuramente le *lesioni da arma bianca*, nonché le lesività correlate alle morti di tipo asfittico.

Si definiscono "armi bianche" oggetti che presentano una punta o un margine tagliente. Tali armi provocheranno lesioni diverse in base alla forma e all'utilizzo delle stesse. Queste possono essere di tre tipi:

- ❖ *ferite da punta*: soluzioni di continuo dovute a strumenti pungenti, ovvero dotati di punta. Solitamente lo strumento penetra perpendicolarmente alla cute e va in profondità;
- ❖ *ferite da taglio*: sono soluzioni di continuo provocate da strumenti taglienti. Affinché una ferita possa essere classificata in questa categoria è necessario che l'arma possieda un lato tagliente e che sia utilizzata facendola scorrere tangenzialmente alla cute;
- ❖ *ferite da punta e taglio*: prodotte dalla combinazione dei due meccanismi precedenti. Avviene mediante utilizzo di strumenti che presentano una punta e almeno uno dei due lati taglienti; solitamente le armi di questo tipo agiscono in modo perpendicolare alla cute; quindi, prima si ha l'effetto penetrante della punta e poi l'azione di taglio di uno dei due lati che consente di andare a lacerare i tessuti, facilitando ulteriormente la penetrazione.

L'impiego di armi bianche a livello del collo può configurare fattispecie particolari, quali lo *sgozzamento*, con contemporanea recisione più o meno completa dell'asse laringo-tracheale e del fascio vascolo-nervoso del collo, *in primis* della carotide, con emorragia massiva (sebbene siano possibili forme meno rapidamente fatali con penetrazione di sangue nelle vie respiratorie o ancora per embolia gassosa, dovuta alla penetrazione di aria nel lume della giugulare recisa) [2].

Relativamente, invece, alla seconda tipologia di lesività accennata in precedenza, si può parlare di asfissia laddove si venga a configurare una situazione in cui, per azione meccanica violenta agente sulle vie aeree, viene impedita la penetrazione di aria a livello polmonare. Generalmente si considerano varie forme di asfissia a seconda del differente meccanismo lesivo: impiccamento, strangolamento, strozzamento, soffocamento ed annegamento (queste ultime con scarso interessamento delle vie aeree superiori).

- ❖ Nell'impiccamento si ha una violenta costrizione esercitata da un laccio applicato attorno al collo, fissato con un estremo ad un sostegno e posto in trazione dal peso del corpo.
- ❖ Nello strangolamento la violenta costrizione è esercitata da un laccio applicato attorno al collo e messo in trazione, non dal peso del corpo, ma da un soggetto terzo.
- ❖ Diversamente, nello strozzamento si avrà invece una costrizione a livello del collo con compressione di fascio vascolo-nervoso e vie aeree mediante l'uso delle mani.

All'analisi autoptica sono da ricercarsi numerosi segni, alcuni aspecifici e generalmente più frequenti (tra i quali cianosi ipostatiche caratteristiche, congestione venosa, presenza di petecchie, segni a livello cutaneo), altri più specifici e direttamente riconducibili al meccanismo lesivo, tuttavia meno frequenti rispetto ai primi.

Nelle morti asfittiche sono importanti, nonché specifici (quindi da ricercare attivamente), i riscontri di aree di infarcimento emorragico a livello dei tessuti molli del collo e delle componenti neuromuscolari, nonché la presenza di fratture o micro-fissurazioni a livello delle cartilagini laringee e dell'osso ioide, spesso accompagnate da un infarcimento emorragico adiacente. Tali segni interni sono spesso più rilevanti e dirimenti di quelli esterni. [3]



## **La radiologia nella pratica forense**

Nelle lesioni delle vie aeree superiori, il compito del patologo forense è quello di fare un *assessment* delle lesioni e di discernere fra le dinamiche omicidiaria, suicidaria o accidentale. Soprattutto in casi in cui l'autopsia standard può avere limiti o sia difficilmente praticabile, la valutazione radiologica post-mortem con TC o RMI si è dimostrata molto utile, al punto che in Letteratura si parla spesso di Virtopsy (o autopsia virtuale) [4] come integrazione alle tecniche autoptiche standard.

In queste situazioni la PMCT ha dimostrato di dare risultati estremamente positivi, specialmente nel rilevamento di corpi estranei, nonché di lesioni ossee, [5] spesso paragonabili al *gold standard* (autopsia).

Un limite della TC, prevedibile perché insito nella metodica stessa, è la bassa capacità di rilevazione di lesioni a livello dei tessuti molli. Per la RMI, al contrario, si sono ottenuti ottimi risultati per le componenti non ossee, data la maggiore risoluzione di contrasto. Inoltre, vanno considerate alcune problematiche annesse all'uso delle metodiche radiologiche sopracitate; tra queste rientrano sicuramente i costi per l'acquisto dell'attrezzatura, specie per strutture ospedaliere di piccole dimensioni, nonché i costi e il tempo necessario alla formazione di radiologi con sufficiente esperienza nell'evidenziare i reperti di interesse medico-legale.

Da quanto esposto sopra è facile comprendere come l'autopsia standard sia ancora una componente imprescindibile nella pratica routinaria del patologo forense [6,7]; tuttavia, queste tecnologie possono esservi affiancate e risultare sempre più vantaggiose.

## **L'uso di PMCT, RMI e micro-TC applicato alle vie aeree superiori**

Anche a livello delle vie aeree superiori vi è stato un utilizzo sempre maggiore delle tecniche radiologiche post-mortem. Dalla Letteratura emerge come la PMCT sia la tecnologia più applicata e con risultati spesso più che soddisfacenti. Uno dei primi studi in merito è quello di Yan, Thali et al. il cui scopo era il valutare l'utilità delle tecniche radiologiche (MRI e MSCT) in 9 soggetti deceduti per strangolamento,

nonché in 2 soggetti sopravvissuti a lesioni asfittiche. Si è dimostrata una buona congruenza tra i ritrovamenti autoptici e le immagini radiologiche, confermando il potenziale di MRI e MSCT nella pratica forense, specialmente nei pazienti sopravvissuti, in cui le opzioni diagnostiche sono piuttosto limitate. [8]

In particolare, l'uso della PMCT è di grande utilità nell'evidenziare lesioni tipicamente correlate a meccanismi asfittici; in tali casi, come dimostrato da due studi da parte del gruppo di Naimo et al., le lesioni più spesso presenti riguardano le cartilagini tiroidee (la base del corno superiore risulta il più comune sito interessato da fratture) [9] e in secondo luogo l'osso ioide (il sito più comunemente interessato è il terzo medio o posteriore del grande corno) [10]. Ulteriore reperto può essere la rilevazione di bolle di gas a livello dei tessuti molli, laddove il corpo non sia in stato di putrefazione. [11]

La stessa PMCT è stata analizzata all'interno di un importante lavoro da parte di Treitl et al., posta in confronto con la PMFP (post-mortem *fine preparation*), tecnica attualmente posta come *gold standard* nel distretto considerato. In questo studio prospettico monocentrico, con casistica di 54 casi, si è messa in risalto la grande efficienza della metodica radiologica nel rilevare lesioni nelle componenti osteocartilaginee, specialmente se si considera quanto il *gold standard* possa essere una tecnica altamente *time-consuming*. Nonostante la problematica correlata al diverso grado di ossificazione delle componenti osteocartilaginee nelle varie età, si auspica in prospettiva futura un maggiore uso della radiologia per ottenere risultati ottimi, in tempi più ristretti. [12]

Tuttavia, la PMCT non si è dimostrata altrettanto utile nel rilevare lesioni a livello dei tessuti molli. In queste situazioni, al contrario, la MRI ha dimostrato un'alta efficacia nel rilevamento di emorragie intramuscolari; inoltre è possibile rilevare lesioni a livello dei tessuti molli anche laddove venga a mancare un evidente segno di strangolamento all'esame esterno. [13,14]

Ulteriore tecnica radiologica di cui è possibile avvalersi nelle lesioni delle vie aeree superiori è la micro-TC, dimostratasi uno strumento utile in casi in cui vi sia assenza di segni evidenti all'esame esterno ma rimanga il sospetto di morte a seguito della compressione del collo. In tali situazioni la micro-TC ha saputo rilevare fratture

minute a livello delle cartilagini laringee, specialmente in casi laddove la PMCT dava risultati non univoci. [15] In uno studio da parte di Kettner et al. questa tecnologia ha inoltre dimostrato un maggior dettaglio dell'informazione rispetto alla PMCT, anche laddove uno stato avanzato di decomposizione dei cadaveri infici la possibilità di rilevare eventuali emorragie dei tessuti molli [16].

La micro-TC in questo distretto può però portare a risultati falsi negativi nei bambini e negli adolescenti, nei quali il processo di calcificazione delle cartilagini laringee non è ancora iniziato [15]; inoltre, se confrontata con la metodica istologica, come avviene nello studio di Baier et al., la micro-TC non presenta risultati soddisfacenti nel rilevare lesioni a livello dei tessuti molli, specialmente laddove all'esame esterno siano assenti dei segni evidenti; per questo motivo non sembra poter essere sostitutiva della metodica istologica [17].

## ***Scopo dello studio***

In traumatologia forense, il distretto del collo e delle vie aeree superiori può essere interessato da numerose lesioni provocate da dinamiche di tipo omicidiario, suicidario o accidentale. Queste possono essere soprattutto prodotte mediante l'impiego di armi bianche (armi da punta, armi da taglio, armi da punta e taglio) oppure mediante meccanismi di tipo asfittico (impiccamento, strangolamento, strozzamento, soffocamento e annegamento). Questo distretto è solitamente analizzato mediante esame autoptico, tuttavia quest'ultimo può avere diversi limiti, tra cui la scarsa capacità di rilevare lesioni di piccole dimensioni (fissurazioni, fratture minute da compressione), la difficile informatività dei reperti evidenziati in cadaveri in putrefazione, nonché la possibilità di produrre lesioni iatrogene nel campione. Per i suddetti motivi, l'introduzione nella pratica routinaria delle diverse tecniche radiologiche (MSCT, MRI, micro-TC) è sempre più importante per ovviare alle problematiche tradizionalmente connesse all'autopsia standard. Tuttavia, le stesse metodiche radiologiche hanno mostrato dei limiti, specialmente se non utilizzate in combinazione fra loro.

In Letteratura sono stati pubblicati pochi lavori sull'uso delle tecniche micro-radiologiche per valutare lesioni traumatiche a livello delle vie aeree. Mancano inoltre studi di confronto fra la metodica micro-radiologica e l'autopsia standard, nonché sull'uso di colorazioni per migliorare l'immagine radiologica.

Dunque, il presente studio ha come scopo l'analisi e il confronto delle immagini acquisite tramite micro-TC, ottenute prima e dopo colorazione al Lugol forte, con i riscontri autoptici e con i risultati ottenuti mediante post-mortem fine preparation (PMFP), proposto come *gold standard* dallo studio di Treitl et al.; tutto ciò al fine di:

- valutare l'anatomia e le lesioni patologiche delle vie aeree superiori e del collo mediante analisi micro-radiologica pre e post colorazione con Lugol forte;
- confrontare le scansioni micro-radiologiche con i rilievi autoptici e con i risultati della post-mortem fine preparation (PMFP);
- valutare la potenziale applicabilità e i possibili vantaggi delle suddette metodiche nell'analisi delle lesioni traumatiche delle vie aeree superiori.

## ***Materiali e metodi***

### **Campione Casistico**

La casistica autoptica considerata in questo studio ha previsto come criterio d'inclusione soggetti deceduti con rilievo documentale di traumatismo a livello della regione del collo, ovvero con sospetta lesione traumatica riguardante il complesso ioido-laringo-tracheale. I campioni sono stati inviati presso l'Istituto di Medicina Legale di Padova per la preparazione e l'esecuzione delle micro-TC.

### **Raccolta del campione**

Per ognuno dei soggetti inclusi nello studio, si è proceduto al prelievo delle vie aeree superiori, isolando il complesso laringo-ioido-tracheale fino ai primi anelli cartilaginei. I campioni isolati sono quindi stati conservati in una soluzione di formalina (4%).

### **Analisi macroscopica dei campioni**

I vari campioni, comprensivi delle strutture osteocartilaginee e dei circostanti tessuti muscolari, nervosi, vascolari e fibrosi, sono stati fotografati e analizzati.

### **Acquisizione dei dati e dell'immagine radiologica**

Dopo aver analizzato macroscopicamente i vari campioni, si è proceduto con il fotografare e misurare il peso di ognuno di essi. A seguire gli *specimen* sono stati analizzati mediante micro-TC ad alta risoluzione (Skyscan 1275, Bruker, Kontich, Belgio), presso il Dipartimento di Medicina dell'Università di Padova (*Figura 1*). L'acquisizione delle immagini ha seguito il protocollo seguente:

- 15,7 micron image pixel size;
- 83 kV;
- 120 mA;

- Exposure 6413 ms;
- Rotation step 0,7°;
- Frame averaging 2;
- 1280 x 1024 pixel field of view.



Figura 1: Micro-TC

## Colorazione con Lugol forte

Successivamente, si è proceduto come segue: dapprima, i campioni sono stati estratti dalla soluzione di conservazione, tamponati per eliminare eccessi di formalina ed infine immersi in una soluzione al 20% di Lugol forte (Figura 2) e acqua distillata. Gli *specimen* sono rimasti immersi in questa soluzione per 4 giorni. Dopodiché gli stessi sono stati estratti, immersi in alcol etilico (99,7%) e risciacquati con acqua distillata. Infine, i campioni sono stati posti nuovamente in formalina (4%).



Figura 2: Esempio di soluzione acquosa di Lugol forte

## Seconda acquisizione alla micro-TC

In seguito all'impregnazione con Lugol, i campioni sono stati nuovamente acquisiti mediante micro-TC, con le specifiche di cui sopra.

## Ricostruzione 3D su CTvox

Il software CTvox (*Figura 3*) è stato utilizzato per le ricostruzioni tridimensionali delle immagini ottenute alla micro-TC. Si sono quindi attuati degli aggiustamenti grafici, tramite il *transfer function editor*, modificandone parametri quali *opacity*, *L* ed aggiungendo modifiche estetiche con *surface lightining* e *shadows*. Le immagini sono state valutate da un radiologo con specifica esperienza di micro-radiologia.

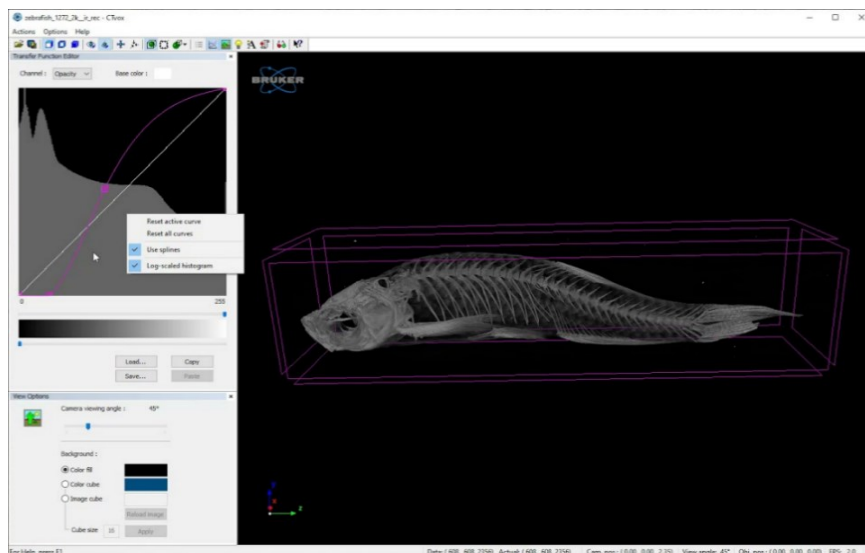


Figura 3: Schermata di lavoro sul software CTvox

## PMFP

Gli *specimen* sono stati preparati mediante attenta rimozione dei tessuti molli adiacenti alla via aerea. A tal proposito, i campioni sono stati lasciati a macerare in acqua per 10 giorni, effettuando giornalmente piccole rimozioni di tessuti, fino all'isolamento dello "scheletro" ioido-laringo-tracheale. I campioni sono quindi stati analizzati macroscopicamente. Per concludere, si è effettuato un *recording* delle varie lesioni osservate, compilando un'apposita scheda (*Figura 4*).

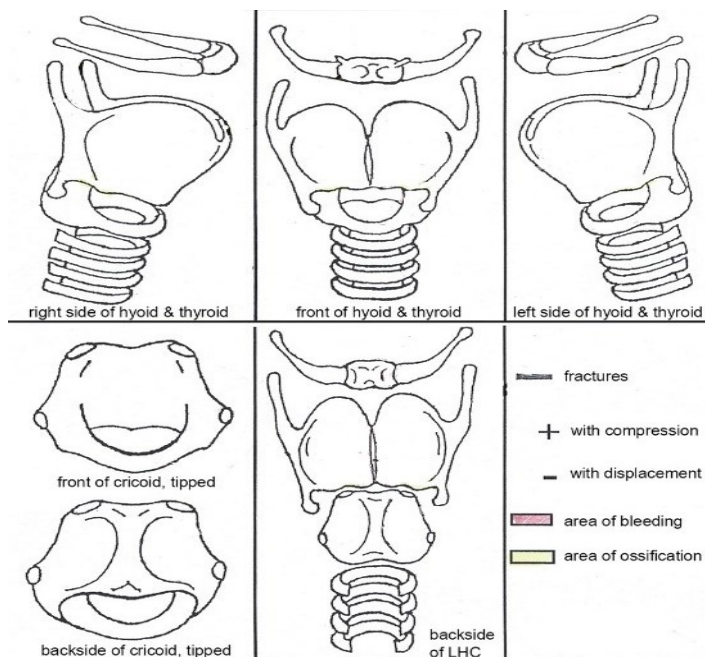


Figura 4: Scheda compilata per il recording delle lesività

## Parametri analizzati

In ognuna di queste fasi è stata eseguita una statistica descrittiva, con identificazione della percentuale di casi in cui le varie strutture si sono rivelate osservabili (*Tabelle I-IV*). Per ogni campione le strutture ricercate sono state l'osso ioide, la cartilagine tiroidea, gli anelli tracheali e i tessuti molli.

<b>Osso ioide</b>	<b>Visualizzabili/ Totale casi (%)</b>	<b>Cartilagine tiroidea</b>	<b>Apprezzabili/ Totale casi (%)</b>
<b>Anatomia</b>		<b>Anatomia</b>	
Corpo	/9	Membrana tiro-joidea	/10
Grandi corna	/9	Scudo laringeo	/10
Piccole corna	/9	Corni superiori	/10
<b>Lesività</b>		<b>Lesività</b>	
Presenza di fratture	/9	Corni inferiori	/10
Interruzioni della continuità corticale	/9	Incisura laringea	/10
Riconoscimento del tipo di frattura (composta o scomposta)	/9	Cartilagine triticea	/10
		<b>Lesività</b>	
		Disallineamento scudo	/10
		Fratture	/10
		Interruzione della continuità cartilaginea	/10
		Riconoscimento del tipo di frattura (composta o scomposta)	/10

**Tabella I:** Checklist esemplificativa utilizzata per il recording dei reperti visualizzabili a livello dell'osso ioide nei vari complessi laringo-ioido-tracheali.

**Tabella II:** Checklist esemplificativa utilizzata per il recording dei reperti visualizzabili a livello della cartilagine tiroidea nei vari complessi laringo-ioido-tracheali.



<b>Anelli tracheali</b>	<b>Visualizzabili/ Totale casi (%)</b>
<b>Anatomia</b>	
<i>Presenza anelli</i>	<i>/10</i>
<i>Dimensione</i>	<i>/10</i>
<i>Forma</i>	<i>/10</i>
<i>Parete muscolare posteriore</i>	<i>/10</i>
<i>Legamenti anulari</i>	<i>/10</i>
<b>Lesività</b>	
<i>Fratture</i>	<i>/10</i>
<i>Soluzioni di continuo</i>	<i>/10</i>
<i>Forma e dimensione (lesioni)</i>	<i>/10</i>

**Tabella III:** Checklist esemplificativa utilizzata per il *recording* dei reperti visualizzabili a livello tracheale nei vari complessi laringo-ioido-tracheali.

<b>Tessuti molli</b>	<b>Visualizzabili/ Totale casi (%)</b>
<b>Anatomia</b>	
<i>Presenza tessuti molli</i>	<i>/10</i>
<b>Lesività</b>	
<i>Edemi</i>	<i>/10</i>
<i>Infarcimento emorragico</i>	<i>/10</i>
<i>Gas bubble sign</i>	<i>/10</i>
<i>Lesioni muscolari</i>	<i>/10</i>

**Tabella IV:** Checklist esemplificativa utilizzata per il *recording* dei reperti visualizzabili a livello dei tessuti molli nei vari complessi laringo-ioido-tracheali.

## ***Risultati***

La casistica oggetto del presente studio è costituita da 10 complessi ioido-laringo-tracheali potenzialmente presentanti lesioni traumatiche coinvolgenti le vie aeree superiori. Di questi, 2 risultano appartenuti in vita a soggetti di sesso maschile e 8 a soggetti di sesso femminile; 2 a soggetti di età < 18 anni e 8 a soggetti di età > 18 anni. La casistica esaminata prevede:

- 3 casi di sgozzamento;
- 1 caso di decapitazione;
- 1 caso di depezzamento;
- 1 caso di intossicazione da xenobiotici con edema della glottide;
- 1 caso di impiccamento;
- 1 caso di strozzamento;
- 1 caso di asfissia meccanica da schiacciamento;
- 1 caso di morte da shock emorragico in seguito a lesioni da arma bianca.

*Warning:* uno dei complessi oggetto di studio risultava sprovvisto dell'osso ioide, poiché non prelevato nel corso dell'accertamento necroscopico.

### **Analisi macroscopica**

I vari campioni sono stati estratti dalla soluzione di conservazione per essere fotografati (*Figure 5-10*) e quindi analizzati, compilando la checklist precedentemente vista (*Tabelle I-IV*). Per quanto riguarda la capacità nel visualizzare l'anatomia:

- ❖ a livello dello ioide sono stati visualizzati il corpo e le piccole corna in meno della metà dei casi (*entrambi visualizzabili solo nel 33% dei casi*), le grandi corna sono state rilevabili solamente in un caso;
- ❖ per quanto riguarda la cartilagine tiroidea, lo scudo laringeo era visibile in metà dei casi (*50% dei casi*), i corni superiori nel 30% dei casi, similmente per l'incisura laringea (*visibile nel 20% dei casi*); la membrana tiro-joidea, i corni inferiori e la cartilagine triticea non sono stati visualizzati in nessuno dei 10 casi;

- ❖ a livello tracheale, la presenza degli anelli tracheali è stata rilevata in tutti i casi, situazione simile per la parete muscolare posteriore (70% dei casi); i legamenti anulari sono stati visualizzati solo in un caso;
- ❖ la presenza dei tessuti molli è stata visualizzabile in tutti e 10 i casi.

Le lesività rilevate sono state le seguenti:

- ❖ a livello dell'osso ioide non sono state visualizzate lesioni;
- ❖ la cartilagine tiroidea ha mostrato macroscopicamente il disallineamento dello scudo laringeo in un caso, nonché la presenza di fratture (nel 20% dei casi), riconoscendo il tipo di frattura in entrambi i casi;
- ❖ per quanto concerne gli anelli tracheali, sono state rilevate soluzioni di continuo (Figura 9) e la presenza di fratture in metà dei casi considerati (50% dei casi); è stata inoltre visualizzata una sezione completa della trachea in meno della metà dei casi (40% dei casi);
- ❖ macroscopicamente, a livello dei tessuti molli, sono stati evidenziati infarcimenti emorragici (Figura 10) in metà dei casi, lesioni muscolari in meno della metà dei casi (20% dei casi); la presenza di edemi è stata rilevata in un unico caso.



Figura 5: Veduta anteriore di uno dei complessi ioido-laringo-tracheali



Figura 5: Veduta posteriore dello stesso complesso



Figura 7: Veduta laterale sn del campione



Figura 8: Veduta superiore del complesso

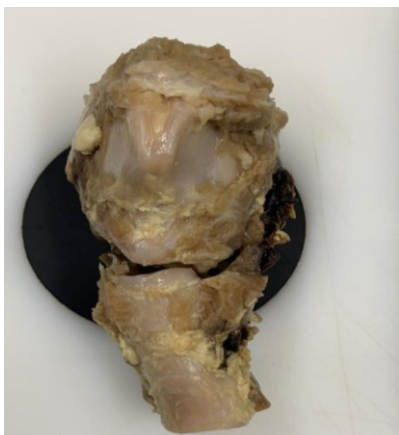


Figura 9: Veduta anteriore di un complesso ioido-laringo-tracheale con soluzione di continuo a livello della trachea

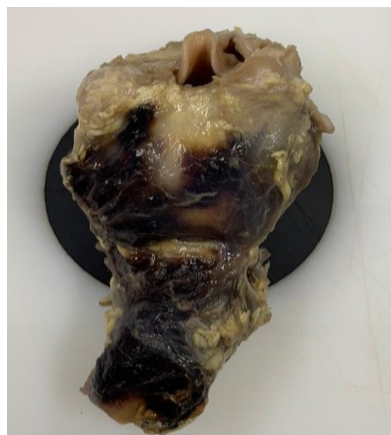


Figura 10: Veduta posteriore dello stesso complesso con importante infarcimento emorragico a livello della parete posteriore

## Ricostruzione tridimensionale micro-TC

In seguito a ricostruzione 3D sul software CTvox delle immagini acquisite in micro-TC (Figure 11-13), si è compilata la medesima checklist utilizzata precedentemente (Tabelle I-IV). La visualizzazione dell'anatomia ha dato i seguenti risultati:

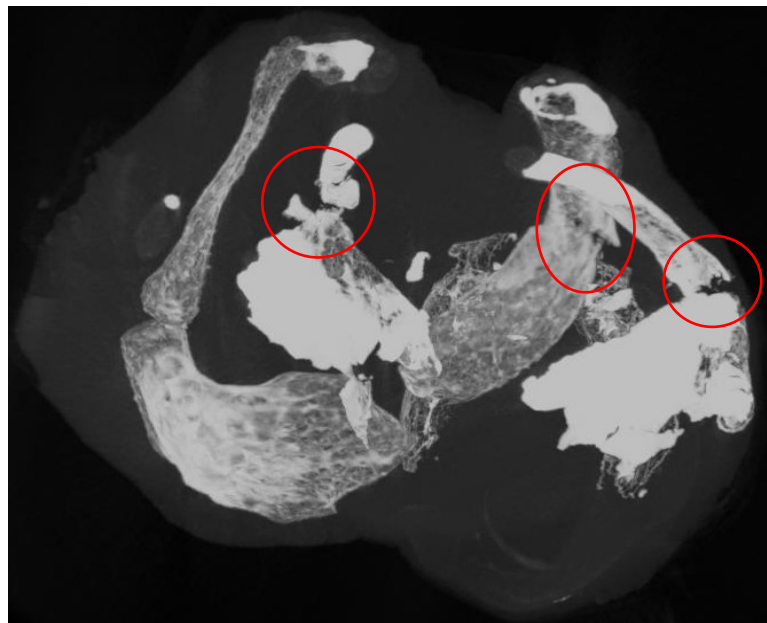
- ❖ a livello dello ioide sono stati visualizzati il corpo nella quasi totalità dei casi (88% dei casi), le grandi corna in tutti i casi e le piccole corna in meno della metà dei casi (*visualizzabili solo nel 44% dei casi*);
- ❖ per quanto riguarda della cartilagine tiroidea, la membrana tiro-joidea non è mai stata visualizzata, similmente è avvenuto per lo scudo laringeo (10% dei casi), per la cartilagine triticea (10% dei casi) e per l'incisura laringea (20% dei

*casi*). Al contrario, i corni superiori e inferiori sono stati visualizzati in più della metà dei casi (*70% dei casi*);

- ❖ la struttura anatomica tracheale è risultata difficilmente apprezzabile (*rilevata nel 10% dei casi*). La parete muscolare posteriore e i legamenti anulari non sono stati visualizzati in nessun caso;
- ❖ la micro-TC non ha mai consentito la visualizzazione dei tessuti molli;

Per quanto concerne le lesività:

- ❖ a livello dello ioide sono state rilevate interruzioni della continuità corticale (*nell'11% dei casi*), nonché la presenza di fratture (*nel 22% dei casi*); in entrambi i casi di frattura è stato possibile riconoscere la tipologia delle stesse;
- ❖ a livello della cartilagine tiroidea in meno della metà dei casi (*30% dei casi*) sono state evidenziate fratture (*Figura 11*), delle quali è stato possibile riconoscerne il tipo (*Figura 12*); inoltre, è stata anche rilevata l'interruzione della continuità cartilaginea in un caso (*Figura 13*);
- ❖ a livello tracheale sono state rilevate soluzioni di continuo e sezione completa della trachea in un unico caso;
- ❖ i tessuti molli non sono stati evidenziabili.



*Figura 11: Ricostruzione tridimensionale micro-TC sul software CTvox di un complesso ioide-laringo-tracheale. In rosso sono cerchiare le lesività rilevate, compatibili con fratture.*



Figura 12: Ricostruzione tridimensionale micro-TC sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. Dettaglio sul grande corno dx dell'osso ioide. In rosso è cerchiata una lesività, compatibile con una frattura composta.



Figura 13: Ricostruzione tridimensionale micro-TC sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. Dettaglio sul grande corno sn dell'osso ioide. In rosso è cerchiata una lesività, compatibile con un'interruzione della continuità corticale.

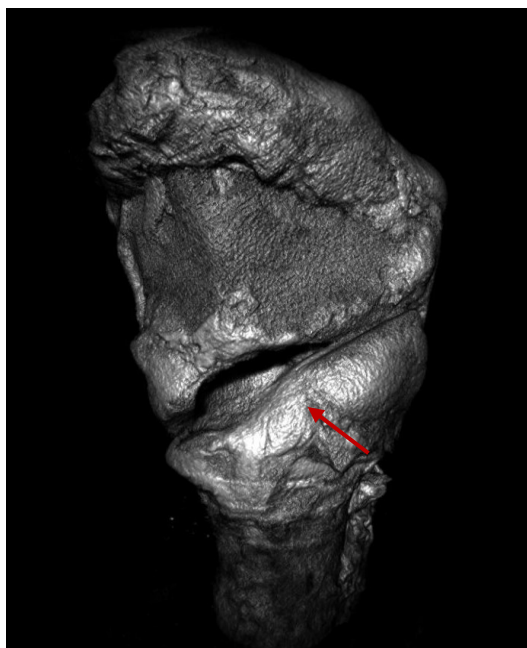
### Ricostruzione tridimensionale micro-TC (post Lugol)

Dopo aver trattato i campioni con la soluzione acquosa di Lugol, si è proceduto ad una nuova acquisizione radiologica. Dalla ricostruzione sul software CTvox (Figure 14-15) si è quindi passati a compilare la checklist vista in precedenza (Tabelle I-IV). Valutando la capacità di visualizzare l'anatomia si sono avuti i seguenti rilevati:

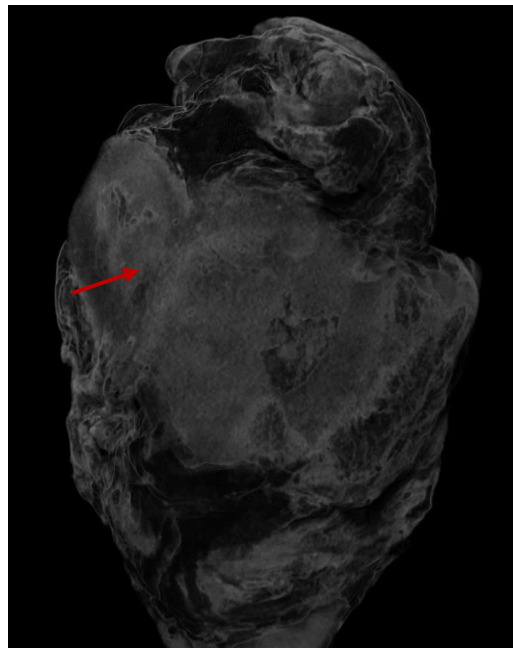
- ❖ il corpo e le grandi corna dell'osso ioide sono stati evidenziati in un terzo dei casi (33% dei casi per entrambe le parti); le piccole corna sono state evidenziate in un unico caso;
- ❖ a livello della cartilagine tiroidea la situazione è la seguente: ad eccezione dello scudo laringeo e dell'incisura laringea (visibili entrambi nel 33% dei casi), le restanti strutture sono apprezzabili in un unico caso, come avviene per corni superiori e membrana tiro-joidea, o non rilevabili in alcun caso, come avviene per corni inferiori e cartilagine triticea;
- ❖ per quanto concerne la trachea, si è riconosciuta la presenza degli anelli tracheali in buona parte dei casi (80% dei casi); la parete muscolare posteriore è stata visibile in più della metà dei casi (60% dei casi);
- ❖ la presenza dei tessuti molli è stata rilevata in tutti e 10 i casi;

Per quanto riguarda la capacità nel rilevare le lesività:

- ❖ per l'osso ioide non sono state rilevate lesioni in nessun caso;
- ❖ a livello della cartilagine tiroidea è stato possibile apprezzare il disallineamento dello scudo laringeo in un caso (*Figura 15*);
- ❖ nel distretto tracheale, in *1 caso su 10* è stata rilevata la presenza di fratture, in *1 caso su 10* una sezione completa e una soluzione di continuo nel *33% dei casi*;
- ❖ a livello dei tessuti molli non si sono rilevate lesività.



*Figura 14: Ricostruzione tridimensionale micro-TC (dopo trattamento con soluzione acquosa di Lugol) sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. Si noti la soluzione di continuo che interessa la faccia anteriore del complesso a livello della cricoide (freccia rossa).*



*Figura 15: Ricostruzione tridimensionale micro-TC (dopo trattamento con soluzione acquosa di Lugol) sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. Si noti il disallineamento dello scudo anteriore della cartilagine tiroidea (freccia rossa).*

## **Esecuzione PFMP**

Al termine del processo di macerazione e di rimozione dei tessuti molli, i campioni sono stati fotografati nuovamente (*Figura 16*). I tessuti molli sono stati valutati durante il processo di rimozione degli stessi. È stata compilata la medesima checklist utilizzata nelle fasi precedenti (*Tabelle I-IV*), nonché l'apposita scheda presentata in precedenza (*Cfr. Figura 4*). Per quanto riguarda la capacità nel visualizzare l'anatomia:

- ❖ a livello dello ioide sono stati visualizzati il corpo e le grandi corna in tutti i casi (*entrambi nel 100%*), le piccole corna sono state rilevabili in più della metà dei casi (*66% dei casi*);
- ❖ per quanto riguarda la cartilagine tiroidea, tutte le strutture sono state visualizzate perfettamente, ad eccezione della cartilagine triticea (*visibile nel 50% dei casi*);
- ❖ la presenza delle strutture anatomiche tracheali è stata rilevata in tutti i 10
- ❖ la presenza dei tessuti molli è stata evidenziata in tutti e 10 i casi.

Le lesività rilevate sono state le seguenti:

- ❖ a livello dell'osso ioide si sono evidenziate fratture in meno della metà dei casi (*22% dei casi*), di cui è stato possibile riconoscere il tipo di frattura in ognuno di questi. Le interruzioni della continuità corticale si sono invece rilevate in un solo caso;
- ❖ la cartilagine tiroidea ha mostrato macroscopicamente il disallineamento dello scudo laringeo in un caso, nonché la presenza di fratture (*nel 40%*), riconoscendone il tipo in ognuno di questi casi;
- ❖ per quanto concerne gli anelli tracheali, sono state rilevate soluzioni di continuo e la presenza di fratture in metà dei casi considerati (*50% dei casi*); è stata inoltre visualizzata una sezione completa della trachea in meno della metà dei casi (*40% dei casi*);
- ❖ a livello dei tessuti molli, rimossi nel processo di macerazione, sono stati evidenziati infarcimenti emorragici in metà dei casi (*50% dei casi*), rilevando negli stessi casi ulteriori raccolte emorragiche anche su piani tissutali più profondi; inoltre, si sono evidenziate lesioni muscolari in meno della metà dei casi (*20% dei casi*), mentre la presenza di edemi è stata rilevata in un unico caso.





Figura 16: Campione ioido-laringo-tracheale dopo esecuzione della PMFP

## Comparazione dei risultati

In tabella sono riassunti i risultati ottenuti mediante le varie tecniche utilizzate nel presente studio (Tabella V).

Apprezzabilità (%)	Analisi Macroscopica	Micro-TC (basale)	Micro-TC (post-Lugol)	PMFP
<b>Osso ioide</b>				
Corpo	3/9 (33%)	8/9 (89%)	3/9 (33%)	9/9 (100%)
Grandi corna	1/9 (11%)	9/9 (100%)	3/9 (33%)	9/9 (100%)
Piccole corna	3/9 (33%)	4/9 (44%)	1/9 (11%)	6/9 (66%)
Presenza di fratture	0/9 (0%)	2/9 (22%)	0/9 (0%)	2/9 (22%)
Interruzioni della continuità corticale	0/9 (0%)	1/9 (11%)	0/9 (0%)	1/9 (11%)

Riconoscimento del tipo di frattura (composta o scomposta)	0/9 (0%)	2/9 (22%)	0/9 (0%)	2/9 (22%)
<b>Cartilagine tiroidea</b>				
Membrana tiro-joidea	0/10 (0%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	10/10 (100%)
Scudo laringeo	5/10 (50%)	1/10 (10%)	3/10 (30%)	10/10 (100%)
Corni superiori	3/10 (30%)	7/10 (70%)	1/10 (10%)	10/10 (100%)
Corni inferiori	0/10 (0%)	7/10 (70%)	0/10 (0%)	10/10 (100%)
Incisura laringea	2/10 (20%)	2/10 (20%)	3/10 (30%)	10/10 (100%)
Cartilagine triticea	0/10 (0%)	1/10 (10%)	0/10 (0%)	5/10 (50%)
Disallineamento scudo	1/10 (10%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	1/10 (10%)
Presenza di fratture	2/10 (20%)	3/10 (30%)	0/10 (0%)	4/10 (40%)
Interruzione della continuità cartilaginea	0/10 (0%)	1/10 (10%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)
Riconoscimento del tipo di frattura (composta o scomposta)	2/10 (20%)	3/10 (30%)	0/10 (0%)	4/10 (40%)
<b>Anelli tracheali</b>				
Presenza anelli	10/10 (100%)	1/10 (10%)	8/10 (80%)	10/10 (100%)
Parete muscolare posteriore	7/10 (70%)	0/10 (0%)	6/10 (60%)	10/10 (100%)
Legamenti anulari	1/10 (10%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	10/10 (100%)
Presenza di fratture	5/10 (50%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)	5/10 (50%)
Soluzioni di continuo	5/10 (50%)	1/10 (10%)	3/10 (30%)	5/10 (50%)
Sezione completa	4/10 (40%)	1/10 (10%)	1/10 (10%)	5/10 (50%)
<b>Tessuti molli</b>				
Presenza tessuti molli	10/10 (100%)	0/10 (0%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)
Edemi	1/10 (10%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	1/10 (10%)
Infarcimenti emorragici	5/10 (50%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	5/10 (50%)
Gas bubble sign	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)
Lesioni muscolari	2/10 (20%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)	2/10 (20%)

**Tabella V:** Reperti visualizzabili nei complessi ioido-larigo-tracheali mediante le varie metodiche considerate dal presente studio.

## Casi esemplificativi

Si riportano tre casi differenti, esemplificativi delle metodiche seguite per l'analisi dei campioni ioido-laringo-tracheali in studio.

### Caso 1

Il campione è stato prelevato da una vittima di un trauma della strada ad alta energia, che ne ha provocato la decapitazione.

#### Analisi macroscopica

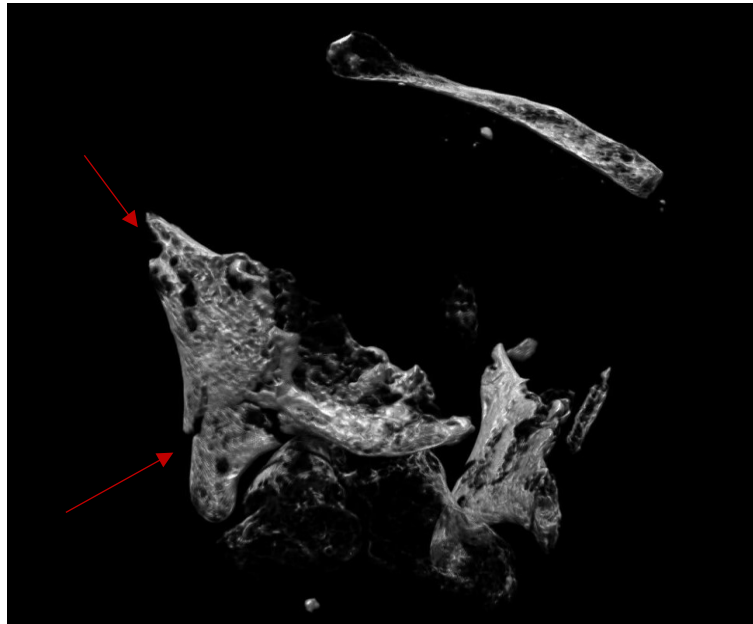
Assenza del corpo dell'osso ioide, nonché del grande corno destro. A livello della cartilagine tiroidea è evidente una rima di frattura ad andamento cranio-caudale, con spostamento postero-laterale della lamina destra dello scudo anteriore; sono visibili, inoltre, degli infarcimenti emorragici a livello dei tessuti molli localizzati postero-superiormente al corno superiore destro della cartilagine tiroidea e anteriormente sulla porzione infero-laterale della lamina destra. La trachea e i tessuti molli sono visualizzabili. (Figura 17)



Figura 17: Veduta anteriore del complesso ioido-laringo-tracheale. Si noti la rima di frattura sullo scudo anteriore della cartilagine tiroidea.

### Ricostruzione micro-TC (basale)

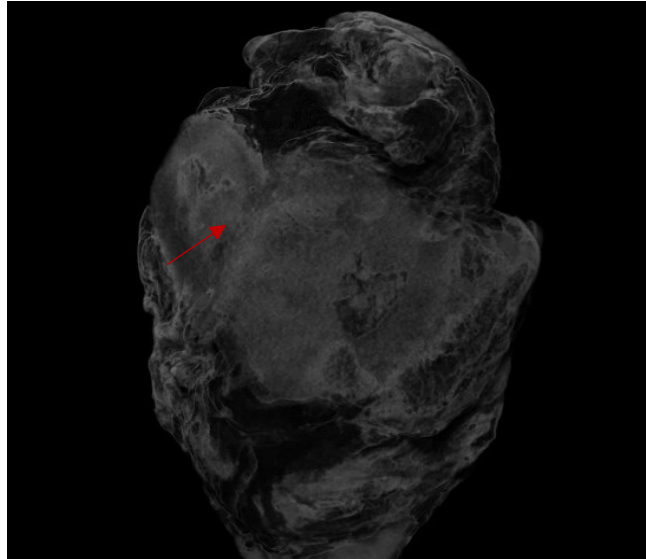
Alla ricostruzione tridimensionale (*Figura 18*) si rileva la sola presenza del grande corno destro dell'osso ioide. Lo scudo della cartilagine tiroidea risulta scarsamente visualizzabile. Risultano interessate da lesioni (compatibili con interruzione della continuità cartilaginea) il corno superiore e inferiore destri. La trachea e i tessuti molli non sono apprezzabili.



*Figura 18: Ricostruzione tridimensionale micro-TC sul software CTvox di un complesso ioide-laringo-tracheale. Lo scudo anteriore della cartilagine tiroidea risulta scarsamente visualizzabile.*

### Ricostruzione micro-TC (post Lugol)

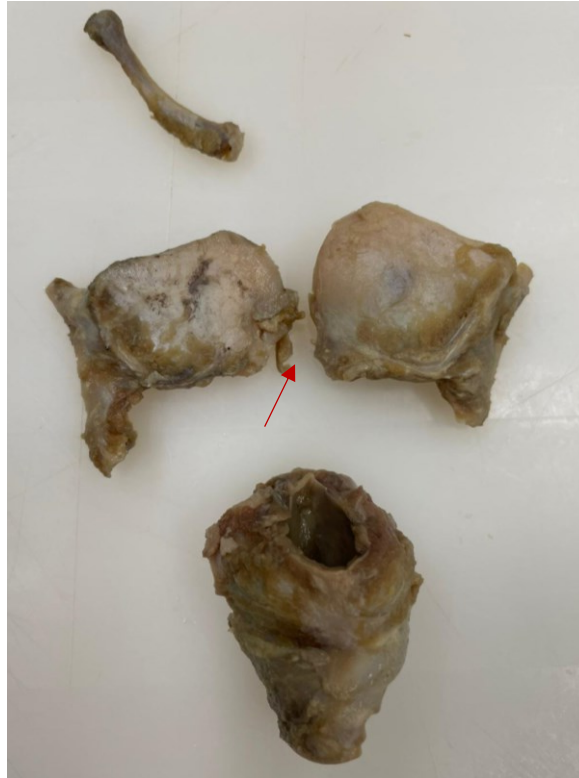
Alla seconda acquisizione (*Figura 19*), lo scheletro osteo-cartilagineo è mal visualizzabile *in toto*; tuttavia, lo scudo anteriore della cartilagine tiroidea appare spostato postero-lateralmente a livello della lamina destra. La trachea è altresì mal visualizzabile. I tessuti molli sono apprezzabili ma risultano mal definiti, non essendo possibile valutare la presenza di anomalie o lesioni.



*Figura 19: Ricostruzione tridimensionale micro-TC (dopo trattamento con soluzione acquosa di Lugol) sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. Si noti il disallineamento dello scudo anteriore della cartilagine tiroidea (freccia rossa).*

### PMFP

Al termine del periodo di macerazione (*Figura 20*), l'osso ioide presenta esclusivamente il grande corno sinistro, che non risulta lesionato. La cartilagine tiroidea è ben visibile e mostra una fissurazione sulla lamina destra supero-lateralmente, nonché lo spostamento della stessa lamina, con frattura dello scudo anteriore in posizione para-mediana destra ad andamento cranio-caudale; sono presenti, inoltre, fratture a livello della base dei corni inferiori, di sinistra e destra, posteriormente. I tessuti molli sono stati prevalentemente rimossi, senza rilievo di alterazioni patologiche, fatto salvo quanto già descritto per il campione pre-macerazione. La trachea è ben apprezzabile.



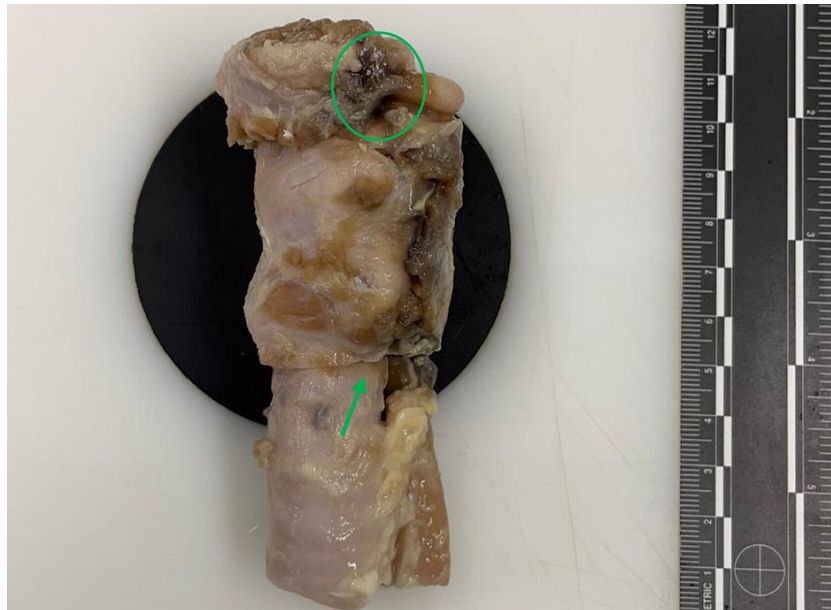
*Figura 20: Veduta anteriore del campione dopo esecuzione della PMFP. Si noti la frattura dello scudo anteriore della cartilagine tiroidea (freccia rossa).*

## Caso 2

Il campione è stato prelevato da un soggetto strozzato.

### Analisi macroscopica

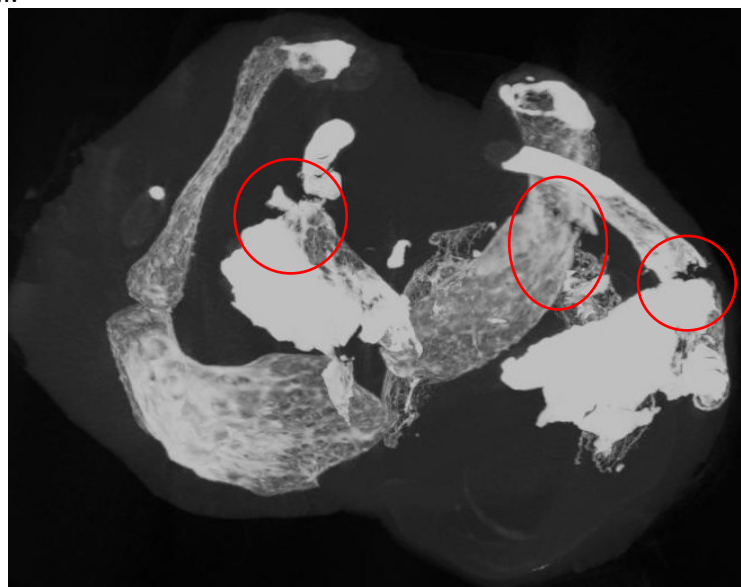
L'osso ioide risulta scarsamente apprezzabile. Si evidenzia una soluzione di continuo a livello del primo anello tracheale di forma lineare, con andamento perpendicolare all'asse principale del complesso, con sezione completa della trachea stessa (*Figura 21, freccia*). Sono visibili delle aree di infiltrazione emorragica a livello del terzo posteriore del grande corno sinistro dello ioide (*Figura 21, particolare cerchiato*); a livello della lesione tracheale sono presenti ulteriori infarcimenti emorragici bilateralmente sul versante posteriore.



*Figura 21: Veduta laterale sinistra del complesso ioido-laringo-tracheale. Si notino la sezione completa della via respiratoria a livello sottocricideo (freccia verde) e l'infarcimento emorragico a livello del grande corno sinistro dello ioido (cerchio verde).*

### Ricostruzione micro-TC (basale)

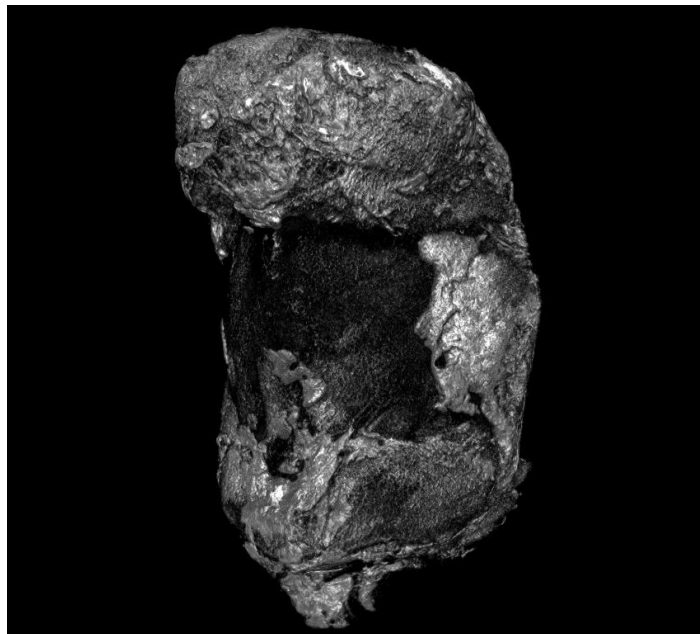
L'intero scheletro osteo-cartilagineo, ad eccezione dello scudo della cartilagine tiroidea, è ben apprezzabile (Figura 22). Sono evidenziabili 3 fratture, di cui una a livello del grande corno sinistro dello ioido, le due restanti a livello di entrambi i corni superiori della cartilagine tiroidea. La trachea e i tessuti molli risultano non visualizzabili.



*Figura 22: Ricostruzione tridimensionale micro-TC sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. In rosso sono cerchiato le lesività rilevate, compatibili con fratture.*

### Ricostruzione micro-TC (post Lugol)

L'intero scheletro osteo-cartilagineo risulta mal visualizzabile. La trachea è anch'essa scarsamente visualizzabile. I tessuti molli sono apprezzabili ma con scarsa qualità del dettaglio anatomico e patologico. (Figura 23)



*Figura 23: Ricostruzione tridimensionale micro-TC (dopo trattamento con soluzione acquosa di Lugol) sul software CTvox di un complesso ioido-laringo-tracheale. Si noti lo scarso contrasto fra i tessuti.*

### PMFP

L'osso ioide risulta fratturato nel terzo posteriore del grande corno sinistro; il grande corno destro risulta anch'esso danneggiato nello stesso punto; sono inoltre apprezzabili le piccole corna, non patologiche. La cartilagine tiroidea è ben visibile; si rileva una frattura di entrambi i corni superiori (a sinistra più cranialmente). I tessuti molli sono stati prevalentemente rimossi. La trachea è ben apprezzabile e risulta sezionata completamente a livello sotto-cricoideo. (Figura 24)





*Figura 24: Veduta del campione dopo esecuzione della PMFP. Si notino le fratture a livello delle grandi corna dello ioide e ai corni superiori della cartilagine tiroidea.*

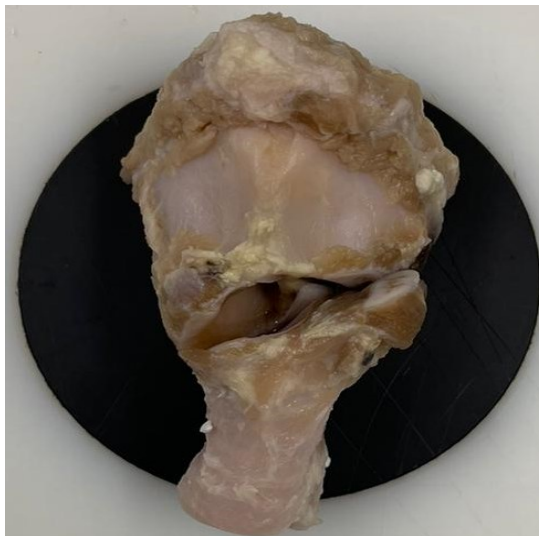
### Caso 3

Lo *specimen* è stato acquisito da una vittima di sgozzamento.

#### Analisi macroscopica

L'osso ioide risulta in parte visibile a livello della parte anteriore del corpo, nonché nelle piccole corna bilateralmente. Appare evidente una soluzione di continuo a tutto spessore lineariforme di 3,5 cm di lunghezza, ad andamento obliquo a partire dalla parte infero-laterale sinistra della cartilagine tiroidea e terminante in prossimità del margine laterale destro dell'anello cricoideo, a margini diastasi. Sono presenti infarcimenti emorragici a livello dei tessuti molli adiacenti al corno inferiore sinistro, a circondare l'area interessata dalla lesione precedentemente

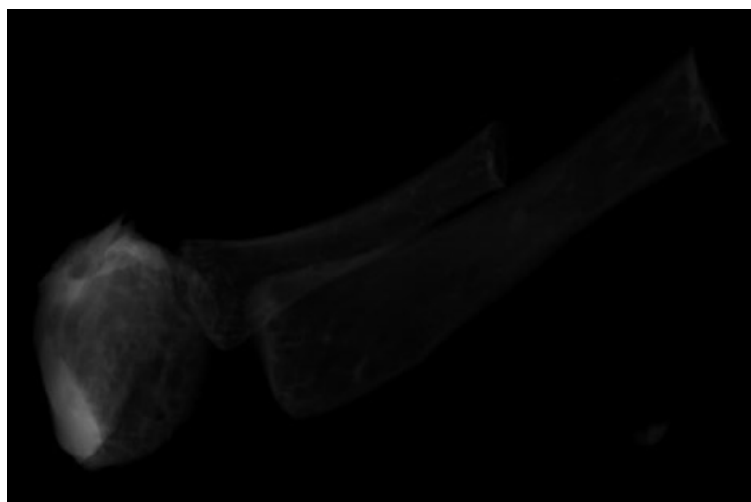
descritta. Il campione risulta privato di larga parte dei tessuti molli. La trachea è ben visualizzabile e non presenta anomalie. (Figura 25)



*Figura 25: Veduta anteriore del complesso ioido-laringo-tracheale. Si noti la soluzione di continuo a livello dell'anello cricoideo.*

### Ricostruzione micro-TC (basale)

Risultano esclusivamente visibili il corpo e le grandi corna dell'osso ioide. La cartilagine tiroidea risulta non visualizzabile. Allo stesso modo la trachea e i tessuti molli non sono apprezzabili. (Figura 26)



*Figura 26: ricostruzione tridimensionale micro-TC sul software CTvox. L'unica struttura visualizzabile risulta essere l'osso ioide.*

### Ricostruzione micro-TC (post Lugol)

Lo scheletro osteo-cartilagineo risulta visualizzabile a livello dello scudo anteriore della cartilagine tiroidea e a livello cricoideo. Risulta visibile una soluzione di continuo a tutto spessore lineariforme, ad andamento obliquo a partire dalla parte infero-laterale sinistra della cartilagine tiroidea e terminante in prossimità del margine laterale destro dell'anello cricoideo, a margini diastasi. La trachea e i tessuti molli sono valutabili ma non mostrano anomalie o lesioni. (Figura 27)



*Figura 27: ricostruzione tridimensionale micro-TC (dopo trattamento con soluzione acquosa di Lugol) sul software CTvox. Si noti la soluzione di continuo a livello cricoideo.*

### PMFP

Al termine della macerazione (Figura 28), l'osso ioide è ben visualizzabile in ogni sua parte, allo stesso modo anche le restanti cartilagini laringee. Si rileva una soluzione di continuo a tutto spessore lineariforme di 3,5 cm di lunghezza, ad andamento obliquo a partire dalla parte infero-laterale sinistra della cartilagine tiroidea e terminante in prossimità del margine laterale destro dell'anello

cricoideo, a margini diastasati. I tessuti molli sono stati prevalentemente rimossi.  
La trachea è ben apprezzabile e non patologica.



*Figura 28: Campione dopo esecuzione della PMFP. Si noti la presenza della parte infero-laterale sn della lamina sn della cartilagine tiroidea, separata dal resto della stessa*

## ***Discussione***

Il distretto del collo e delle vie aeree superiori può essere interessato da molteplici lesività di interesse medico-legale [2,3,].

Dalla Letteratura emerge come le tecniche radiologiche attualmente in uso dimostrino una buona concordanza con i risultati ottenibili con l'attuale *gold standard* (autopsia) [8], specialmente in condizioni in cui vengano a mancare evidenti segni all'esame esterno del cadavere. [13,14] Ciononostante sono scarsi gli studi che analizzino le potenzialità delle tecniche radiologiche e, in particolare, micro-radiologiche, applicate al distretto delle vie aeree superiori.

### **Micro-TC pre e post-Lugol: due facce della stessa medaglia**

In Letteratura, alcuni lavori hanno presentato la possibilità di utilizzare un contrasto radiologico per tentare di ovviare ai limiti spesso riscontrati alla micro-TC. In particolare, l'uso di una soluzione acquosa a base di Lugol, come contrasto radiologico, ha dimostrato di essere utile in modelli murini, nonché nello studio di embrioni umani e cuori fetali isolati [20,21]. Data questa premessa, il presente studio vuole valutare l'applicazione della soluzione acquosa a base di Lugol, come contrasto per la micro-TC delle alte vie aeree, sebbene sia del tutto sperimentale in questo distretto anatomico.

Si sono valutati i risultati ottenuti nella tecnica micro-radiologica in condizioni basali, ponendo gli stessi a confronto con quelli ottenuti dopo trattamento con soluzione a base di Lugol.

Da questa valutazione, in merito alla capacità di rilevare le varie strutture anatomiche, emergono le seguenti considerazioni.

- ❖ È emersa la differente capacità di evidenziare strutture quali corpo dell'osso ioide (*si passa da 8 casi su 9, in condizioni basali, a solo 3 casi su 9, post Lugol*) e grandi corna (*si "perdono" 6 casi su 9 dopo colorazione con Lugol*). Analogamente, anche a livello della cartilagine tiroidea, l'uso del contrasto rende totalmente non evidenziabili strutture, quali i corni inferiori (*visibili in 7*

*casi su 10, in condizioni basali*); situazione simile anche per i corni superiori (*si passa da 7 casi su 10, a 1 caso su 10 dopo colorazione*). Tuttavia, l'uso del contrasto ha talvolta permesso di rendere evidenti alcune strutture, poco evidenziabili alla micro-TC in condizioni basali; a tal proposito si noti il miglioramento nella visualizzazione di scudo laringeo ed incisura laringea.

- ❖ A livello tracheale la micro-TC in condizioni basali ha rilevato la presenza degli anelli tracheali in solo 1 caso su 10. Dopo il trattamento del campione con soluzione acquosa a base di Lugol, invece, gli anelli tracheali sono stati evidenziati in 8 casi su 10, mostrando un significativo miglioramento della *detectability* di tali strutture.
- ❖ La micro-TC basale ha dato risultati molto negativi, risultando incapace di visualizzare la presenza dei tessuti molli in nessuno dei 10 casi (*e di conseguenza anche delle eventuali lesività associate*), in accordo con i dati della Letteratura [6,7]. L'uso del Lugol ha consentito la visualizzazione degli stessi (*e.g. la parete muscolare tracheale è stata visibile in 6 casi su 10*), tuttavia la scarsa qualità dell'immagine ottenuta (dovuta allo scarso contrasto intertissutale) non ha permesso di valutare la presenza di eventuali lesività in tale distretto.

Per quanto riguarda il rilievo di lesività traumatiche, è emerso quanto di seguito esposto.

- A livello dello ioide e della cartilagine tiroidea, la tecnica micro-radiologica basale ha mostrato un'ottima capacità di rilevazione delle stesse; esemplare è quanto avvenuto nel *Caso 2*, dove la micro-TC in condizioni basali ha evidenziato la presenza di fratture a livello delle grandi corna dello ioide e alla base dei corni superiori della cartilagine tiroidea, fornendo inoltre informazioni sulla tipologia di frattura riscontrata. L'uso del Lugol, al contrario, rendendo non visualizzabili gran parte delle strutture anatomiche, porta alla mancata apprezzabilità delle lesività. Unica eccezione è la rilevazione, in un caso (*Cfr. Risultati, Caso 1*), del disallineamento dello scudo laringeo, altrimenti non evidenziabile alla micro-TC in condizioni basali.

- A livello tracheale, ad eccezione di un caso isolato, la micro-TC in condizioni basali non consente di visualizzare eventuali lesività. L'uso del Lugol (a titolo esemplificativo, vedasi *Caso 3* nella sezione Risultati) invece ha permesso di evidenziare in più casi fratture e soluzioni di continuo (*per quest'ultime si passa da 1 caso su 10, a 3 casi su 10 dopo l'uso del contrasto*).

Alla luce delle considerazioni sopra riportate appare vantaggiosa la possibilità di utilizzare, integrandole, sia le acquisizioni in condizioni basali sia quelle post-trattamento con soluzione acquosa a base di Lugol, così da ottenere risultati in un certo senso complementari. Infatti, se da una parte l'utilizzo del contrasto ha ridotto la differenziazione intertissutale tra tessuti osteocartilaginei e tessuti molli, dall'altra ha reso apprezzabili strutture (per esempio, scudo laringeo e anelli tracheali) non altrimenti visibili alla micro-TC basale. Pertanto, integrando le ricostruzioni delle componenti osteocartilaginee ottenute alla micro-TC basale con quelle ricavate dopo l'uso del Lugol (che rende evidenziabili in particolar modo anelli tracheali e tessuti molli) è possibile ottenere informazioni circa l'anatomia ed eventuali lesività in tutte le componenti esaminate, sebbene tale risultato non sia stato raggiunto nella totalità dei casi.

### **Micro-TC a confronto con l'analisi macroscopica**

Il confronto dei risultati ottenuti da una parte dall'analisi macroscopica del campione fissato, dall'altra dalle ricostruzioni tridimensionali delle immagini micro-radiologiche pre- e post- trattamento del campione con Lugol integrate ha portato alle seguenti considerazioni.

- ❖ A livello dell'osso ioide, le tecniche micro-radiologiche in 2 casi hanno rilevato fratture non riscontrate all'analisi macroscopica (*Figure 11, 12, 13*), ottenendo risultati migliori rispetto all'analisi macroscopica. Ciò vale anche per la visualizzazione dell'anatomia di tale componente.
- ❖ Per la cartilagine tiroidea la micro-TC porta a risultati che sono in larga parte migliori dell'analisi macroscopica sia in ambito anatomico, che nell'analisi delle

lesività. Unica eccezione è data dalla visualizzazione dello scudo laringeo (visibile macroscopicamente in 5 casi su 10, radiologicamente in 3 su 10).

- ❖ A livello tracheale, l'analisi macroscopica si è rivelata superiore rispetto alle due tecniche micro-radiologiche combinate, sia in relazione all'anatomia che per l'analisi delle lesività.
- ❖ Per quanto concerne i tessuti molli, le tecniche micro-radiologiche in combinazione si sono rivelate incapaci di rilevare sia l'anatomia sia le lesività in questo distretto.

### **Confronto acquisizioni micro-radiologiche con il *gold standard* (PMFP)**

Dalla Letteratura emerge che, nel distretto del collo e delle vie aeree superiori, sia utilizzabile la PMFP (post-mortem *fine preparation*). Questa prevede la macerazione del campione, con rimozione graduale e completa dei tessuti molli fino ad esporre lo scheletro osteocartilagineo della via aerea superiore; quest'ultimo viene poi macroscopicamente valutato per rilevare possibili lesività. A tal proposito, la PMFP risulta essere la tecnica attualmente considerata il *gold standard* [12].

Il confronto fra le acquisizioni micro-radiologiche e la PMFP, attualmente considerata il *gold standard* per l'analisi delle lesioni traumatiche di collo e vie aeree superiori ha portato alle seguenti considerazioni. Da un punto di vista anatomico:

- ❖ a livello dell'osso ioide, i risultati ottenuti con le due tecniche micro-radiologiche sono paragonabili alla PMFP, ad eccezione delle piccole corna (*rilevate in 4 casi su 9 alla ricostruzione micro-radiologica*).
- ❖ La visualizzazione radiologica della cartilagine tiroidea ha rilevato nella maggior parte dei casi (*7 casi su 10*) i corni superiori e inferiori, mostrando scarsa capacità discriminativa nei confronti delle restanti componenti. Pertanto, è possibile affermare che per tale struttura la PMFP rimanga la tecnica di riferimento. Tali risultati vanno anche considerati alla luce del fatto



che la micro-TC in questo distretto può portare a risultati falsi negativi in bambini e adolescenti, nei quali le cartilagini laringee non hanno ancora iniziato il processo di calcificazione. [15]

- ❖ A livello tracheale, le immagini micro-radiologiche, in particolare dopo l'uso del Lugol, hanno mostrato risultati lievemente inferiori rispetto alla PMFP.
- ❖ La presenza di tessuti molli è stata rilevata radiologicamente in tutti i casi, con una resa dei dettagli qualitativamente scarsa, che fa rimanere la PMFP la tecnica di riferimento per l'analisi di tale distretto.

Per quanto concerne le lesività riscontrate nei campioni, le immagini micro-TC (pre- e post-Lugol) hanno ottenuto in linea generale buoni risultati. Tuttavia, due casi sono indicativi di un'accuratezza non ottimale della metodica micro-radiologica:

- nel *Caso 1* esposto tra i Risultati, la micro-TC ha rilevato due interruzioni della continuità cartilaginea a livello della cartilagine tiroidea (*alla base del corno superiore e inferiore di destra*), nonché un disallineamento dello scudo laringeo. Dopo PMFP, tuttavia, è stato possibile evidenziare un'ulteriore frattura (*alla base del corno inferiore di sinistra*), oltre a riclassificare la lesione del corno inferiore destro, visibile alla micro-TC come interruzione della continuità corticale, come frattura a tutto spessore.
- Nel *Caso 2* esposto tra i Risultati, le metodiche micro-radiologiche evidenziano la presenza di fratture, non rilevando lesioni alla base del grande corno destro dell'osso ioide.

I risultati relativi alla componente osteocartilaginea ottenuti nel presente studio si pongono in accordo con la Letteratura [15,16], che evidenziava come tali strutture presentassero una resa del dettaglio piuttosto buona alla ricostruzione tridimensionale dopo acquisizione micro-radiologica, pur non raggiungendo l'accuratezza riscontrata con il *gold standard*.

A livello tracheale, nonostante l'utilizzo del colorante conferisca maggiore visibilità a quei tipi di lesività non rilevabili alla micro-TC basale (in particolare, soluzioni di continuo riconducibili all'azione di armi bianche), i risultati sono comunque piuttosto distanti da quelli ottenibili mediante PMFP.

A livello dei tessuti molli, il contrasto radiologico non consente di aumentare sufficientemente il contrasto inter-tissutale, rendendo ardua l'identificazione delle lesività. In tal caso, quindi, le metodiche radiologiche si sono dimostrate inferiori all'analisi macroscopica e al *gold standard* proposto, andando a confermare quanto presente in Letteratura [17]. Pertanto, nonostante il Lugol abbia reso maggiormente visibili le strutture tracheali e i tessuti molli, ciò non ha comunque permesso di ottenere informazioni aggiuntive rispetto al *gold standard*.

### **Micro-TC (vantaggi, limiti, prospettive future)**

Nonostante la ridotta casistica considerata e il carattere prevalentemente esplorativo e sperimentale, il presente studio ha evidenziato le potenzialità dell'impiego della micro-TC (basale e post-Lugol) nello studio delle alte vie respiratorie. In particolare, la resa anatomica e ancor più la capacità di rilevazione di lesività nel distretto osteocartilagineo senza necessità di manipolazione del campione rappresentano il maggiore punto di forza della tecnica micro-radiologica [16], con risultati quasi paragonabili al *gold standard*.

Quindi, la metodica micro-radiologica, se comparata alla PMFP, prospetta la possibilità di analizzare micro-radiologicamente il distretto delle vie aeree superiori in maniera non modificativa del campione e senza ricorrere ad una metodica altamente *time-consuming*. Inoltre, la micro-radiologia apporta ulteriori vantaggi, tra cui quello di essere una tecnica esecutore-indipendente, oggettiva, ripetibile e con la possibilità di *storage* delle immagini ottenute, utilizzabili successivamente in contesto giuridico o accademico [4,6].

Ciò detto, si consideri come le metodiche micro-radiologiche hanno dimostrato carenze, seppur prevedibili, nella rilevazione di lesioni a livello dei tessuti molli [17]. Inoltre, si tenga presente la possibilità che la micro-TC possa dare risultati falsi negativi in soggetti in cui il processo di calcificazione laringea non è stato completato [15].

In conclusione, allo stato attuale non è possibile pensare alla micro-TC come una tecnica sostitutiva al *gold standard*. Sono perciò richiesti ulteriori studi, con casistiche maggiormente consistenti, volti a migliorare le attuali conoscenze

micro-radiologiche, mediante l'introduzione di software dedicati e tramite l'uso di ulteriori tecniche micro-radiologiche (tra cui la micro-RM) o la riproduzione delle lesioni mediante stampe 3D, esplorando una possibile applicazione delle stesse nello studio anatomico e patologico del distretto di collo e vie aeree superiori.

## ***Conclusioni***

Nel distretto del collo e delle vie aeree superiori, l'integrazione della metodica micro-radiologica (pre- e post-Lugol) con l'analisi macroscopica del campione in sede autoptica ha permesso di ottenere buoni risultati, paragonabili alla PMFP, considerato il *gold standard* attuale. Dato il ruolo ancora imprescindibile ricoperto dall'esame autoptico, appare necessario valutare l'integrazione di tale metodica alla pratica forense di routine.

Nei casi di sospetta lesione traumatica del distretto considerato, si propone, quindi, l'attuazione di un protocollo che preveda di effettuare in sede autoptica, il prelievo dei campioni ioido-laringo-tracheali, analizzando in maniera puntuale i circostanti tessuti muscolari, nervosi, vascolari e fibrosi; la successiva acquisizione micro-radiologica del campione prelevato consentirà, poi, l'analisi delle strutture osteocartilaginee, senza richiedere ulteriori modifiche del pezzo. Così facendo, conservando il campione, si garantirà la ripetibilità dell'analisi, ovvero la futura possibilità di effettuare, qualora necessarie, ulteriori indagini supplementari istologiche e/o antropologiche.

## ***Bibliografia***

[1] World Health Organization. Injuries and violence: the facts. Traumatismes et violence: les faits. 2010;19.

[2] Norelli GA, Buccelli C, Fineschi V. Medicina legale e delle assicurazioni. 2. ed. Padova: Piccin; 2014. 292–301 p.

[3] Norelli GA, Buccelli C, Fineschi V. Medicina legale e delle assicurazioni. 2. ed. Padova: Piccin; 2014. 324–347 p.

[4] Thali MJ, Yen K, Schweitzer W, Vock P, Boesch C, Ozdoba C, et al. Virtopsy, a new imaging horizon in forensic pathology: virtual autopsy by postmortem multislice computed tomography (MSCT) and magnetic resonance imaging (MRI)-a feasibility study. *J Forensic Sci.* 2003 Mar;48(2):386–403.

[5] Bolliger SA, Thali MJ, Ross S, Buck U, Naether S, Vock P. Virtual autopsy using imaging: bridging radiologic and forensic sciences. A review of the Virtopsy and similar projects. *Eur Radiol.* 2008 Feb;18(2):273–82.

[6] Pomara C, Fineschi V, Scalzo G, Guglielmi G. Virtopsy versus digital autopsy: virtual autopsy. *Radiol Med.* 2009 Dec;114(8):1367–82.

[7] Jalalzadeh H, Giannakopoulos GF, Berger FH, Fronczek J, van de Goot FRW, Reijnders UJ, et al. Post-mortem imaging compared with autopsy in trauma victims--A systematic review. *Forensic Sci Int.* 2015 Dec;257:29–48.

[8] Yen K, Thali MJ, Aghayev E, Jackowski C, Schweitzer W, Boesch C, et al. Strangulation signs: initial correlation of MRI, MSCT, and forensic neck findings. *J Magn Reson Imaging.* 2005 Oct;22(4):501–10.

[9] Naimo P, O'Donnell C, Bassed R, Briggs C. The use of computed tomography in determining developmental changes, anomalies, and trauma of the thyroid cartilage. *Forensic Sci Med Pathol.* 2013 Sep;9(3):377–85.

[10] Naimo P, O'Donnell C, Bassed R, Briggs C. The use of computed tomography in determining development, anomalies, and trauma of the hyoid bone. *Forensic Sci Med Pathol.* 2015 Jun;11(2):177–85.

[11] Schulze K, Ebert LC, Ruder TD, Fliss B, Poschmann SA, Gascho D, et al. The gas bubble sign-a reliable indicator of laryngeal fractures in hanging on post-mortem CT. *Br J Radiol.* 2018 Apr;91(1084):20170479.

[12] Treitl KM, Aigner LI, Gazov E, Fischer F, Schinner R, Schmid-Tannwald C, et al. Injuries of the isolated larynx-hyoid complex in post-mortem computed tomography (PMCT) and post-mortem fine preparation (PMFP) - a comparison of 54 forensic cases. *Eur Radiol.* 2020 Aug;30(8):4564–72.

- [13] Gascho D, Heimer J, Tappero C, Schaerli S. Relevant findings on postmortem CT and postmortem MRI in hanging, ligature strangulation and manual strangulation and their additional value compared to autopsy - a systematic review. *Forensic Sci Med Pathol*. 2019 Mar;15(1):84–92.
- [14] Deininger-Czermak E, Heimer J, Tappero C, Thali MJ, Gascho D. Postmortem Magnetic Resonance Imaging and Postmortem Computed Tomography in Ligature and Manual Strangulation. *Am J Forensic Med Pathol*. 2020 Jun;41(2):97–103
- [15] Fais P, Giraud C, Viero A, Miotto D, Bortolotti F, Tagliaro F, et al. Micro computed tomography features of laryngeal fractures in a case of fatal manual strangulation. *Leg Med (Tokyo)*. 2016 Jan;18:85–9
- [16] Kettner M, Potente S, Schulz B, Knauff P, Schmidt PH, Ramsthaler F. Analysis of laryngeal fractures in decomposed bodies using microfocus computed tomography (mfCT). *Forensic Sci Med Pathol*. 2014 Dec;10(4):607–12.
- [17] Baier W, Mangham C, Warnett JM, Payne M, Painter M, Williams MA. Using histology to evaluate micro-CT findings of trauma in three post-mortem samples - First steps towards method validation. *Forensic Sci Int*. 2019 Apr;297:27–34.
- [18] Pelletti G, Cecchetto G, Viero A, Fais P, Weber M, Miotto D, et al. Accuracy, precision and inter-rater reliability of micro-CT analysis of false starts on bones. A preliminary validation study. *Legal Medicine*. 2017 Nov; 29:38–43.
- [19] Carew RM, Morgan RM, Rando C. A Preliminary Investigation into the Accuracy of 3D Modeling and 3D Printing in Forensic Anthropology Evidence Reconstruction,. *J Forensic Sci*. 2019 Mar; 64(2):342–52.
- [20] Degenhardt K, Wright AC, Horng D, Padmanabhan A, Epstein JA. Rapid 3D phenotyping of cardiovascular development in mouse embryos by micro-CT with iodine staining. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010 May;3(3):314–22.
- [21] Lombardi CM, Zambelli V, Botta G, Moltrasio F, Cattoretti G, Lucchini V, et al. Postmortem microcomputed tomography (micro-CT) of small fetuses and hearts. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014 Nov;44(5):600–9.