



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**"DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE
MUERTE MEDIANTE EL ESTUDIO DE
LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS MÁS
RELEVANTES."**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

VÍCTOR MANUEL MARTÍNEZ SIGÜENZA

ASESOR DE TESIS: M en C ARACELI GARCÍA DEL VALLE



MÉXICO, D. F.

OCTUBRE, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen de Guadalupe.

Gracias por permitirme terminar la carrera y así poder darle esta satisfacción a mi familia entera, y a pesar de todas las pruebas que me pusiste, mi fe hacia tí sigue siendo mucha.

A mi hija:

Itzel Esmeralda Martínez Hernández

Que es una bendición de dios el que este a mi lado, enseñándome a ser papá y a ser un mejor ser humano, por que con el simple hecho de ser una niña alegre, traviesa, risueña y cariñosa, me ha dado muchas alegrías y satisfacciones pero sobre todo mucho amor, tú siempre serás mi princesita, te amo mucho.

A mis abuelos:

Graciela Rodríguez, Miguel Martínez y Ángela Sigüenza.

Que nunca perdieron la fe y la esperanza en mi de que terminara la carrera; a pesar de que a mi abuela Ángela solo la tuve tres años de mi vida, yo se que esta orgullosa de mi allá en el cielo, gracias por creer en mi.

A mis padres, Maria A. Sigüenza y Víctor M. Martínez.

Gracias por todo su apoyo, dedicación y sacrificio, por hacerme un hombre de bien y guiarme en la vida con sus consejos sabios, por que a pesar de que ya soy padre, nunca dejare de ser su hijo.

A mis hermanos, Graciela y Ángel Martínez.

Gracias por su apoyo ya que siempre que los he necesitado han estado a mi lado, por que a pesar de que nos llevamos muchos años de edad no se que seria de mi si no los tuviera, y recuerden que siempre pueden contar conmigo, los quiero mucho.

A Noika.

Gracias por estar a mi lado a pesar de todo lo que a pasado, por aguantar mis malos ratos, y por haberme dado a una hija tan preciosa y a la que pronto le daremos un hermano, te quiero mucho.

A mis sinodales.

M. en C. Araceli G., M. en C. Consuelo B., QFB. Elena F., QFB. Graciela R. y M. en C. Leonor A.

Por tenerme paciencia y contribuir con sus conocimientos en el desarrollo de este trabajo, Gracias.

A todos mis amigos y amigas de la FES Zaragoza.

Por que a lo largo de la carrera hicieron más alegre y placentera mi estancia, Gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
OBJETIVOS	5
METODOLOGÍA	6
1.-RIGIDEZ CADAVÉRICA	7
1.1 Evolución	
1.2 Importancia médico-legal	
2.-AUTÓLISIS	10
2.1 Definición	
2.2 Etapas	
3.-EVOLUCIÓN POSTMORTAL DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS	12
3.1 Glucosa	
3.2 Compuestos nitrogenados	
Proteínas	
Aminoácidos	
Urea	
Amoniacó	
3.3 Lactato deshidrogenasa	
3.4 Lípidos	
3.5 Sodio	
3.6 Magnesio	
3.7 Potasio	
4.-TRES METODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE POTASIO Y COLESTEROL <i>POST MORTEM</i>	21
4.1 Resumen	
4.2 Introducción	
4.3 Material y Métodos	
4.4 Resultados	
4.5 Discusión	

DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	34
REFERENCIAS	36

RESUMEN

Este trabajo esta dedicado principalmente al estudio de los procesos bioquímicos más importantes que suceden en el cuerpo humano "*post mortem*" para determinar el tiempo aproximado de muerte. También se da a conocer el lugar en donde se llevara a cabo la toma de muestra más adecuada, en donde los parámetros a estudiar tengan confiabilidad y relevancia, ya que existen varios lugares en donde se puede obtener. Entre estos procesos bioquímicos se encuentran: La rigidez cadavérica (*rigos mortem*), la autólisis, los cambios de la concentración de glucosa, la degradación de las proteínas y sus derivadas bases nitrogenadas, los lípidos y algunos electrolitos. Con los cambios bioquímicos que sufren estos parámetros a través del tiempo, se estableció un dato que se espera sea confiable para calcular el tiempo de muerte, así también es importante realizar con rapidez la determinación para darle seguimiento a un proceso legal y que de esta forma pueda tener utilidad en el ámbito forense.

INTRODUCCIÓN

Es esencial comprender la muerte como un proceso que, dependiendo de la intensidad y cualidad de la agresión que la desencadena, tendrá una duración diferente. Decía Dichat que la muerte es un proceso cronológico que conduce a una catástrofe fisiológica, la causa del fallecimiento es un factor fundamental que hay que tener en cuenta en el diagnóstico de la muerte¹. El proceso de la muerte está definido por una sucesión de fases de desintegración progresiva del funcionamiento unitario y coordinado de todas las vidas celulares e hícticas que configuran todas las unidades del cuerpo humano y cuyo funcionamiento integrado es la vida humana. Determinar la muerte supone y a supuesto desde el principio de la vida social organizada, un acto de gran trascendencia, el hecho de designar un individuo como cadáver representa su traslado para inhumación o para ritos similares. Dependiendo del contexto cultural, esto ha planteado desde el principio una serie de miedos, fantasías al posible error en el diagnóstico de la muerte. Gran parte del impulso para el estudio de los signos de muerte se basó en la presión social que exigía respuestas viables y validas a problemas que existían en la resolución de los crímenes.

Hoy en día los plazos exigidos por la mayoría de las legislaciones (24 h mínimo en nuestro país) y un correcto diagnóstico de la muerte hacen prácticamente imposible la existencia de inhumaciones prematuras. La evolución de la tecnología y los avances de la medicina plantean en el momento actual nuevos problemas, algunos de los cuales inciden de lleno en un medio social que, sin la suficiente formación y conocimientos, elabora nuevos miedos y temores, como ocurre en el diagnóstico de muerte cerebral en el terreno de los trasplantes de órganos. Uno de los desafíos de la medicina moderna es explicar en un lenguaje sencillo y accesible las nuevas realidades de la muerte, para evitar el desarrollo de temores injustificados, nos encontramos con un abanico diferente de posibilidades semilógicas dependiente del momento en que se quiera establecer el diagnóstico. Cuando llegamos al estado de muerte absoluta, el diagnóstico puede realizarse

sobre la base de la presencia de los signos de muerte derivados de los fenómenos cadavéricos. Llamamos signos de muerte a la comprobación, instrumental o no, de determinadas condiciones o estados capaces de demostrar la muerte². Existen dos grandes grupos:

1. Signos debidos al establecimiento de los fenómenos cadavéricos.
2. Signos debidos al cese de las funciones vitales.

Comenzaremos con exponer aquellos signos de muerte, aún más tardíos, que por su propia naturaleza implican cambios bioquímicos y estructurales en los tejidos, lo que les confiere la ventaja de su certeza.

Los fenómenos cadavéricos son los cambios producidos en el cuerpo sin vida a partir del momento en que se extinguen los procesos bioquímicos vitales, sufriendo pasivamente la acción de las influencias ambientales². La anoxia y la acidificación progresiva del medio interno junto a los procesos autolíticos determinan una serie de modificaciones que, unidas al cese de las reacciones habituales de los procesos bioquímicos vitales, van a dar lugar a la aparición de una serie de signos de muerte. Sigue una secuencia de aparición variable según las circunstancias del fallecimiento y las características del sujeto. Suele ser completa alrededor de las 8-12 h, alcanza su máxima intensidad a las 24 e inicia su desaparición a las 36 o 48 h. Mancha verde es un signo de aparición tardía por termino medio a las 36 h de fallecimiento. Se produce por la acción del ácido sulfhídrico producido en la putrefacción sobre la hemoglobina y sus productos de degradación. Al parecer en los lugares de máxima concentración de gérmenes, habitualmente en la fosa ilíaca derecha². Tiene la ventaja de ser un signo absolutamente cierto y el conveniente de lo tardío de su aparición (24-48 h). Rigidez cadavérica, el momento de iniciarse la rigidez es variables según diversas circunstancias. Los distintos sistemas musculares entran en rigidez en un orden determinado: aparece primero en los músculos de fibra lisa, miocardio y diafragma, y es algo más tardío en los músculos estriados esqueléticos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente es necesario la determinación rápida y confiable del tiempo de muerte principalmente en los casos en los que se esta dando seguimiento a un proceso legal, ya que de ello puede depender la decisión de los supuestos culpables o de la orden de aprehensión de estos sujetos.

Debido a que se debe tener la certeza del tiempo en el que murió el occiso como un complemento que dirige a la conjetura de todos los elementos que se tienen para poder relacionar las circunstancias en el lugar de los hechos, es necesario tener métodos y parámetros confiables para poder realizar con eficacia y rapidez las determinaciones de los procesos bioquímicos que permitan esta determinación.

Sin embargo ¿Realmente será eficaz la determinación del tiempo de muerte por estos métodos?

Siendo esta investigación del área científica, es necesario emplear todos los conocimientos químicos y biológicos necesarios para darle la importancia a la determinación de los procesos bioquímicos con todos los fundamentos que se han adquirido y confrontarlo como un reto para el avance científico.

Por otro lado pueden darse aportaciones al diagnóstico de muerte para que este tenga una mayor veracidad, cuando se trate en un corto tiempo y así poder facilitar el procedimiento legal, o en su defecto cuando haya pasado algún tiempo antes de que comience el proceso de putrefacción, decir en que momento ha fallecido para corroborar con las evidencias obtenidas.

Hoy en día es necesario tener nuevas técnicas de determinación en el tiempo de muerte, para auxiliar los procesos legales, así como dar a conocer la causa de muerte, ya que los cambios bioquímicos que sufre el cuerpo, nos permiten dar a conocer estos dos parámetros.

OBJETIVOS

- Describir los cambios bioquímicos *post mortem* más importantes en el cuerpo humano.
- Determinar teóricamente el tiempo de muerte mediante el estudio de los cambios bioquímicos *post mortem* que ocurren en el cuerpo humano.

METODOLOGIA

Este trabajo se realizó mediante una investigación de tipo documental, recopilando información de trabajos ya realizados por investigadores que han publicado sus resultados tanto en artículos como en libros u otro medio de información.

Para llevar acabo esta labor, se visitaron bibliotecas que manejan la búsqueda de información, principalmente de bioquímica y medicina legal, así como en la red electrónica, finalmente, de esta manera, se obtuvieron datos que ayudaron ha comprender y explicar los procesos bioquímicos *post mortem*.

CAPÍTULO I

FENÓMENOS CADAVÉRICOS

Estos son fenómenos naturales siempre constantes en las primeras etapas de la evolución del cadáver y son de gran interés desde el punto de vista bioquímico para el diagnóstico de la muerte.

RIGIDEZ CADAVÉRICA.

Para evitar reiteraciones nos remitimos a ese punto: La rigidez cadavérica o *rigor mortem* fue definido por Lacassagne como “un estado de dureza, de retracción y de tiesura que sobreviene en los músculos después de la muerte”. Es un signo absolutamente fiable de muerte, aunque relativamente tardío^{2,3}.

Sus caracteres han quedado magistralmente reflejados en la definición de Lacassagne “estado de dureza, de retracción y de tiesura, que sobreviene en los músculos después de la muerte”³. Dicho estado aparece constantemente en los cadáveres, variando solamente en el momento de instaurarse, que excepcionalmente puede ser muy precoz o muy tardío. Se produce en toda la serie animal, incluso en los de sangre fría, y afecta tanto la musculatura estriada del aparato locomotor como el miocárdico, diafragma y músculos de fibra lisa.

La escuela de Lacassagne puso de manifiesto las relaciones existentes entre los fenómenos de deshidratación en el músculo y la rigidez. Finalmente se demostró que ésta iba acompañada de cambios de reacción del tejido muscular, que se hace ácido, aumentando la acidez paralelamente con la intensificación de la rigidez y haciéndose alcalino al desaparecer ésta. Esta acidificación fue atribuida inicialmente a la formación pos mortal de ácido láctico en el músculo. Las investigaciones modernas han situado los orígenes de esta acidificación en la

- Aceleradores: calor (la rigidez dura poco), frío (la rigidez dura mucho), infancia (la rigidez dura muy poco), vejez y agonía previa⁴.
- Retardadores: vestimenta, ropas de lecho, adultez, muerte súbita o violenta.

De acuerdo con la regla de Brouardel la rigidez desaparece cuando comienza la putrefacción cadavérica y en el mismo orden en que apareció (dirección cefalo-caudal). En recién nacidos y lactantes se instala inmediatamente después de la muerte y desaparece muy rápidamente.

1.2 Importancia médico-legal

La rigidez cadavérica ofrece un interés práctico en el diagnóstico médico-legal, que se concreta de modo especial en los siguientes casos:

1. Diagnóstico de la muerte real.
2. Determinación del tiempo de muerte.
3. Reconstrucción de las circunstancias en que se produjo la muerte: diagnóstico de la simulación del suicidio por disparos de arma de fuego.

CAPÍTULO II

AUTÓLISIS

2.1 DEFINICIÓN

Denominamos autólisis al conjunto de procesos fermentativos que tiene lugar en el interior de la célula por la acción de las propias enzimas celulares, sin intervención bacteriana. Es el más precoz de los procesos transformativos cadavéricos.

Las enzimas responsables de la autólisis proceden de los lisosomas; estos orgánulos, en la célula viva, se caracterizan por la impermeabilidad de su membrana. Sí sufre un deterioro tiene lugar el paso de las enzimas de los lisosomas al citoplasma, originándose la digestión de la propia célula.

2.2 ETAPAS

En este proceso, Schryver y De Launay distinguieron dos etapas: una ultravital o período latente, en que las alteraciones se limitan al citoplasma celular, quedando el núcleo inalterado y otro período anárquico o de muerte confirmada en el que el núcleo presenta una hipercromatosis inicial, seguida de una hipocromatosis o decoloración. En un segundo período corresponde a los tres o cuatro primeros días *post mortem*, tienen lugar las alteraciones celulares sin afectarse el núcleo. Desde el punto de vista bioquímico la autólisis consiste en un proceso de demolición molecular de los elementos orgánicos existentes en la célula por la intervención de los fermentos o enzimas celulares. Borris, en su día dividía las enzimas que intervienen en estos fenómenos en dos grupos: hidrasas (enzimas de hidratación-deshidratación) y oxidoreductasas (enzimas de oxidación-reducción), división que no necesita ser modificada⁵.

Esta acción, afecta a todos los órganos del cuerpo, por ejemplo, en el riñón se produce necrosis en los túbulos contorneados distales, el encéfalo presenta reblandecimiento por la autólisis y toda la mucosa digestiva se reblandece, por otro lado el útero y el corazón son los últimos órganos afectados por este fenómeno, el cabello y los huesos son resistentes a la autólisis.

CAPÍTULO III

EVOLUCIÓN POSMORTAL DE LOS COMPONENTES BIOQUÍMICOS.

A pesar de que se empezó a escribir al comienzo de la década de 1960 son muy abundantes los trabajos consagrados al estudio del comportamiento *post mortem* de los compuestos bioquímicos.

Su objetivo ha sido diverso: unos están orientados al establecimiento de la data de la muerte, otros al mejor conocimiento de la agonía y otros al diagnóstico *post mortem*.

A continuación, se exponen los datos más consolidados sobre la evolución *post mortem* de los principales componentes bioquímicos y su valor diagnóstico.

3.1 Glucosa

Los primeros autores que describieron el ascenso *post mortem* de la glucosa fueron Hamilton-Paterson y Johnson en 1940⁶. En 1941 Hill sentó tres criterios claves:

1. El aumento de la glucosa en la aurícula derecha procedía de la glucogenólisis del hígado.
2. La glucogénesis se producía a un ritmo aproximado de 12.8 mg % por hora.
3. Las asfixias podían producir un marcado incremento en la glicemia; así encontró en intoxicaciones por CO valores de 336 mg/100 mL; en casos de ahorcaduras, 608 mg/100 mL, y en casos de hipertensión intracraneal, 560 mg/ 100 mL⁷.

En 1940, Hamilton, Paterson y Johnson demuestran que los estados hiperglucémicos pueden ser diagnosticados en el líquido cefalorraquídeo y según Naumann (1950), reflejaban mejor el estado de diabetes que el suero⁸. La concentración de glucosa basal, es decir, la del momento de la muerte, se estableció en 200 mg %. En casos de asfixia se produciría una hiperglucorraquia, Fekete y Kerenji (1965) señalan que la glucosa se degrada rápidamente y en un grupo de diabéticos encuentran una concentración media de 212 mg %.

Se ha estudiado la glucosa por el método de la glucosa oxidasa en 100 cadáveres cuyas causas de muerte fueron diversas: muertes violentas, muertes súbitas y casos de dudoso diagnóstico. Encontrando resultados que indican que la glucosa desciende rápidamente después de la muerte, influida por la temperatura². En la serie con una data *post mortem* de 1 h, el valor es de 51,06 mg % con una desviación estándar de 39.71. A las 12 h los valores eran de 15 mg, con una desviación estándar de 10.8. El valor en el tiempo cero, es decir, en el momento de la muerte, se deduciría de la ecuación:

$$Y = 81.04 - 2.33 x$$

Es decir el valor de la glucosa en el tiempo cero sería de 81.04 mg%. La pendiente de la curva es de 2.33 mg/h. Los valores basales de glucosa en el humor vítreo son de 73.43 ± 10.04 . Coe ha señalado que el embalsamiento no impide valorar la glucosa en el humor vítreo⁹.

3.2 Compuestos Nitrogenados

Proteínas

Santini, en 1958, sentó el principio, después ampliamente confirmado de que el patrón proteico *post mortem* en sangre se caracteriza por un ligero descenso de la

albúmina y un incremento de las betaglobulinas debido a la hemólisis, mientras que las otras fracciones permanecerían estables^{5,10}.

Sobre las proteínas tiene lugar una escisión de la compleja molécula, que se transforma primero en albumosas, pasando luego a peptonas y, finalmente, a polipéptidos y aminoácidos¹¹.

Se encontró que la concentración basal de proteínas en el humor vítreo es de 104 mg% con una tendencia a aumentar. Las fracciones estudiadas por electroforesis en gel de poliacrilamida demuestran un descenso de albúmina y un aumento de beta y alfa globulinas².

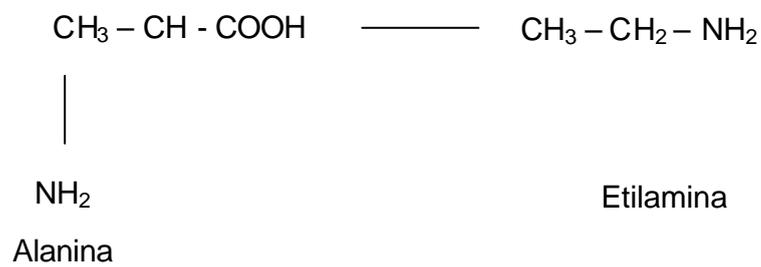
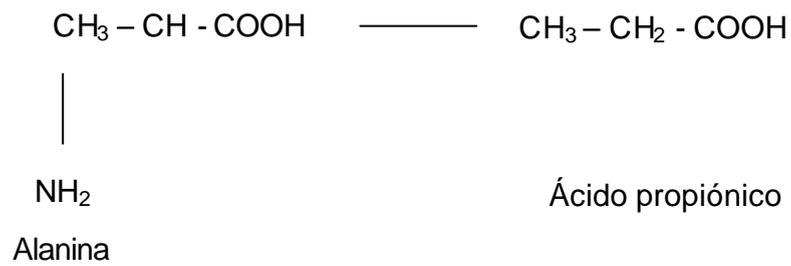
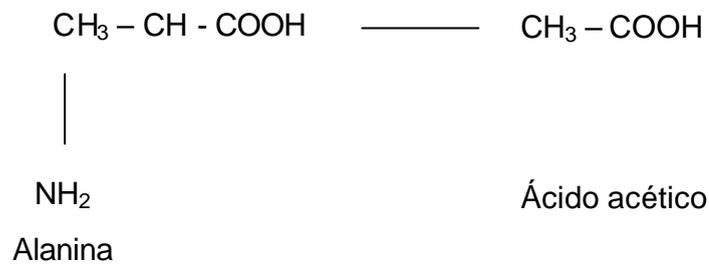
Últimamente, se ha producido un notable avance en el diagnóstico *post mortem* empleando técnicas inmunológicas. Prácticamente la mayoría de los procesos mediados por reacciones antígeno-anticuerpo se pueden detectar, bien identificando el antígeno o bien el anticuerpo.

Las técnicas usadas para el diagnóstico del SIDA en un ser vivo son igualmente válidas en el cadáver (enzimoinmunoanálisis (ELISA) Y Western-blot). Igualmente las reacciones anafilácticas pueden evidenciarse empleando las técnicas RAST.

Aminoácidos

Como consecuencia de la proteólisis que sigue a la liberación de las enzimas lisosómicas, se produce un incremento de aminoácidos libres en todos los fluidos. En 1925 había sido demostrado este fenómeno por Pucher y Burd, lo que fue corroborado más tarde por Schouroup (1950) en líquidos cefalorraquídeo, este autor encuentra que el incremento se ajusta a una ley matemática por lo que lo incluyó en su famosa fórmula para la data de la muerte³. Oliveira De Sa en 1969 comprobó igualmente un incremento de los aminoácidos a partir de las 48 hrs. *Post mortem*⁴.

La aparición de los aminoácidos coincide con la invasión microbiana. Ulteriormente, éstos son desintegrados, según tres posibilidades: ¹¹



Urea

Entorno a este elemento se han hecho numerosas investigaciones, no siempre concordantes, en sangre, líquido cefalorraquídeo, humor vítreo, sinovial, etc.

En el estudio sobre el humor vítreo se analizan los valores de urea. El valor de la urea en el momento cero, es deducido de la ecuación de regresión que resulta ser de 67.28 mg %, con tendencia a descender². La ecuación es:

$$Y = 67.28 - 0.53 x.$$

Amoniaco

La fase final de desmoronamiento proteico en el curso de la autólisis y putrefacción es la producción de amoniaco. En el organismo vivo sería transformado en urea; en el cadáver ello no es posible, de ahí que se produzca un incremento importante del amoniaco después de la muerte.

Van Den Dever (1978) encuentra en el humor vítreo un incremento *post mortem* que, dado su carácter lineal, podría utilizarse en el cálculo del intervalo *post mortem* dentro de las primeras 24 h¹².

3.3 *Lactato deshidrogenasa*

La LDH aumenta progresivamente después de la muerte y de un modo paralelo a la GOT, con la que tiene una buena correlación: = 0.84. La LDH aumenta progresivamente en el humor acuoso, éste dato puede emplearse para establecer la data de la muerte del pescado. Luna ha encontrado que en líquido pericárdico se produce, asimismo, un incremento *post mortem* y sobre todo, que se modifica por la agonía¹². Este autor encuentra una elevación en las asfixias mecánicas.

3.4 Lípidos

Los lípidos no habían sido tan ampliamente estudiados como otros factores quizá por que su capacidad diagnóstica no es tan crítica. No obstante, existe un buen número de trabajos que hoy completan todo el complejo mundo de estas investigaciones. Así, por ejemplo, sabemos que el colesterol es estable después de la muerte, y, sin embargo, los ésteres del colesterol están muy disminuidos.

Enticknap (1961-1962) Estudio el comportamiento de los ácidos grasos libres, lipoproteínas y betalipoproteínas, encontrado que todos eran marcadamente estables; después de la muerte solo sufrían una pequeña degradación autolítica del 0.05% cada hora⁵. Frange estudio el metabolismo *post mortem* de los triglicéridos y encuentra que su degradación comienza después de las 36h y produce un incremento de ácidos grasos saturados. La tasa de degradación de los glicerofosfátidos era aproximadamente, del 50% entre el tercer y el sexto día.

Sin embargo, los lípidos sufren la acción de la β -oxidación bajo la influencia de los fermentos lipolíticos y lecinolíticos, de lo que resulta la escisión en glicerina, ácidos grasos, colina, etc., que en su degradación sucesiva producen ácido acético y sustancias volátiles. El llamado enranciamiento de las grasas, que representa una de las etapas de la putrefacción de los lípidos, consiste en la oxidación de los ácidos grasos liberados inicialmente, con formación de otros ácidos de más bajo peso molecular (ácido butírico, valeriánico, caprónico, etc.), debido a su volatilidad, se produce el desagradable olor característico¹¹.

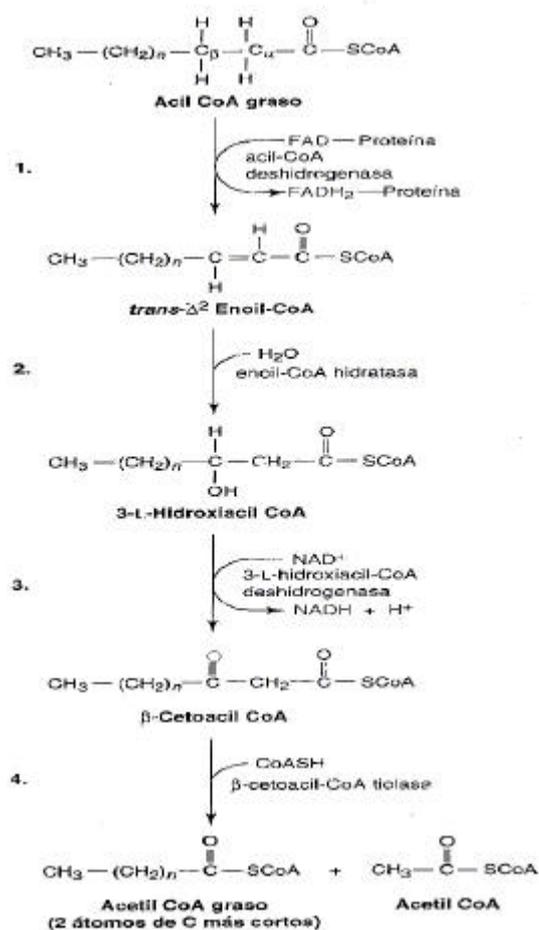


Figura2. La beta oxidación. Tomado de metabolismo de lípidos¹³.

La colaboradora, E. Lachica, ha estudiado el comportamiento *post mortem* de los ácidos grasos libres en líquido pericárdico y en suero de sangre procedente de la femoral¹⁴. En el líquido pericárdico se produce un incremento tras la muerte, con una ecuación:

$$y = 21.61 + 1.38 x$$

Con un valor en el tiempo cero de 21.61 $\mu\text{g/mL}$ y un incremento/hora de 1.38. En el suero femoral, los ácidos grasos eran estables¹⁴.

3.5 Sodio

Coe ha señalado que en los casos de deshidratación mortal puede encontrarse en el cadáver un aumento en la urea e hipernatremia⁹. Se citan alteraciones de las cifras de Cl y Na en humor vítreo en caso de niños abandonados y depauperados. Alteraciones electrolíticas se observan también en obstrucciones intestinales o pilóricas, como motivos repetidos, etc. De los acontecimientos que ocurren en las células tras la autólisis, se podría esperar un aumento de electrólitos intracelulares en el suero y en los demás fluidos. El sodio es estable en las primeras 20 horas y después tiende a ascender. Se han encontrado valores que oscilan de 118-154mEq/L con una media de 144mEq/L.

3.6 Magnesio

Los valores de Magnesio en suero según Jetter, no sufren modificaciones hasta que se inicia la hemólisis, en donde aumenta rápidamente¹. Caddell y Schepper encuentran significación diagnóstica para el Magnesio en el vítreo, en los casos de muerte súbita del lactante. No obstante el mayor interés diagnóstico de la dosificación del Magnesio reside en la sumersión en agua salada.

3.7 Potasio

El humor vítreo de los ojos presenta un aumento de potasio casi lineal (liberado de los eritrocitos retinianos) con forme aumenta el intervalo *post mortem*². Los datos más fiables se obtienen de marcadores en este último, especialmente el potasio, ya que el humor vítreo es un fluido prácticamente aislado de todos los fenómenos que llevan a cabo la putrefacción y el potasio es el principal ión intracelular, el cual aumenta su concentración al aumentar la tasa de autólisis¹⁵.

La determinación de la concentración de potasio se realiza con un electrodo ión específico y se obtiene una curva de regresión cuya ecuación es:

$$\text{Intervalo } \textit{post mortem} = 3,38 \times [\text{K}^+] - 10,66.$$

CAPÍTULO IV

TRES MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE POTASIO Y COLESTEROL *POST MORTEM*

A continuación se detalla un estudio realizado en el Instituto Anatómico Forense de Barcelona y en el Servicio de Bioquímica del Hospital de San Pablo de Barcelona., cuyo propósito fue crear una batería de pruebas para la resolución del cálculo del tiempo de muerte y así apoyar en los casos ilícitos de muerte; o en su defecto describir cuales son los mejores cambios bioquímicos en los que se pueden confiar para la determinación del tiempo de muerte.

4.1 RESUMEN

La tanatoquimia es una rama auxiliar importante en medicina forense aunque tiene sus limitaciones. Se ha enfatizado el examen de fluidos que no se alteran con tanta rapidez como la sangre después de la muerte. El humor vítreo, líquido pericárdico, líquido cefalorraquídeo o líquido sinovial se han utilizado con estos fines.

Objetivos: comparar los valores de colesterol en sangre, glucosa y potasio en humor vítreo y creatincinasa en líquido pericárdico en tres analizadores y métodos diferentes a fin de validar dos de ellos para análisis *post mortem*. El tercero se tomó como método de referencia.

4.2 INTRODUCCIÓN:

En medicina forense la determinación de la causa de la muerte requiere el conocimiento de distintas circunstancias y datos en el contexto de una

determinada situación. La tanatoquímica es una ayuda importante aunque tiene sus limitaciones. Se conocen las alteraciones de los constituyentes bioquímicos en el periodo *post mortem*, especialmente en la sangre y los resultados de las investigaciones publicadas, en ocasiones están sujetos a controversia. Por esta razón se ha enfatizado el examen de fluidos que no se alteran o contaminan con tanta rapidez como la sangre después de la muerte. El humor vítreo (HV), el líquido cefalorraquídeo (LCR), el líquido pericárdico (LP) o el líquido sinovial (LS) se han utilizado con estos fines ^{16,17,18}. La revisión de Coe destaca estos aspectos y otros de la bioquímica *post mortem* ¹⁹.

El objetivo principal de este estudio fue comparar los resultados de colesterol, glucosa, potasio y creatinina (CK) en tres diferentes métodos y analizadores. Uno de estos métodos se tomó como método de referencia frente a los otros dos que se trataban de validar para muestras *post mortem*. Los fluidos utilizados fueron: plasma para la determinación de colesterol, humor vítreo para glucosa y potasio y líquido pericárdico para las CK. Objetivos secundarios fueron obtener cuanta información se derivara de los datos analizados y su aplicabilidad en medicina forense.

4.3 MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se llevó a cabo en el Instituto Anatómico de Barcelona. Estudio observacional analítico de muestras procedentes de 55 cadáveres consecutivos que ingresan para la práctica de la autopsia judicial. Los criterios de exclusión fueron cadáveres en putrefacción o de más de 48 horas de la muerte.

Las muestras se obtuvieron simultáneamente de los fluidos sangre, HV y LP. La sangre para determinación de colesterol se recogió del sistema venoso o cavidad cardiaca. El HV se extrajo del ojo izquierdo mediante aspiración con aguja fina desde el epicanto externo. El LP se obtuvo por incisión del saco pericárdico, sin

contaminación sanguínea y aspiración. Se deshecho el líquido que presentaba aspecto hemático.

Las muestras de sangre y LP se centrifugaron y se procedió al análisis. El HV se congeló previamente y se realizó el análisis acto seguido a la descongelación.

Los análisis se realizaron en los siguientes aparatos y metodologías:

- 1) Analizador Spotchem EZ (Menarini Diagnostics) que utiliza un sistema de química seca mediante tiras reactivas. En este analizador se determinó el colesterol en sangre, la glucosa en humor vítreo y las CK en líquido pericárdico y en el Analizador Spotchem, que utiliza la potenciometría de ión selectivo para la determinación de potasio que se realizó en HV.
- 2) Analizador Reflotron (Roche Diagnostics), que también utiliza un sistema de química seca mediante tiras reactivas. En este analizador se determinó colesterol en sangre, glucosa y potasio en HV y CK en LP.
- 3) Métodos del laboratorio de referencia: se utilizaron métodos estándar adaptados a los analizadores Hitachi 911 (colesterol en sangre, método enzimático) Cobas Integra 800, Roche Diagnostics, para la medida de glucosa en humor vítreo (hexoquinasa) y potasio en humor vítreo (potenciometría con electrodo ion selectivo). Las CK en LP se midieron con un método de química seca en el Vitros 250 (Johnson-Johnson Company).

Los análisis con la metodología descrita en los apartados 1º y 2º se realizaron en el Instituto Anatómico Forense de Barcelona. Los análisis con las metodologías descritas en el apartado 3º se realizaron en el Servicio de Bioquímica del Hospital de San Pablo de Barcelona.

Estos últimos métodos se tomaron como referencia y comparación con los dos primeros métodos y analizadores Spotchem y Reflotron.

Las muestras se analizaron en el mismo día con los tres métodos a fin de no introducir sesgos o errores añadidos. Los datos se procesaron en el paquete estadístico SPSS para Windows versión 11.5. Se estableció la normalidad de los datos y la homogeneidad de las varianzas. Se compararon los valores medios mediante la prueba t de Student para datos apareados y se halló la correlación entre valores para establecer las diferencias existentes entre los resultados. Se aceptó un grado de significación estadística del 95%.

4.4 RESULTADOS:

Los resultados de colesterol y potasio se exponen en las tablas HIV, así como los boxplots de distribución de los valores. Los valores medios de potasio fueron 9,539 mmol/L, 9,768 mmol/L y 7,883 mmol/L con el método de referencia, Spotchem EL y Reflotron respectivamente. Los valores medios de colesterol fueron 184 mg/dL, 142,1 mg/dL y 145,2 mg/dL con el método de referencia, Spotchem EZ y Reflotron respectivamente. Los valores de glucosa en los dos primeros métodos no pudieron compararse ya que el punto de corte inferior detectado para este constituyente en los analizadores Spotchem EZ (Menarini) y Reflotron (Roche) está en 20 mg/dL y 10 mg/dL respectivamente. Muchas de las muestras analizadas no alcanzaron estos valores.

Los resultados de las CK totales presentaron gran variabilidad y altos valores que sobrepasaron el límite superior detectado por los dos primeros analizadores. En varios casos se procedió a la dilución de la muestra. En el tercer método de referencia los resultados de las CK asimismo presentaron gran dispersión y requirieron sucesivas diluciones de la muestra. No se procedió a la comparación estadística por no considerarla fiable.

TABLA I: Valores medios de **potasio** en los tres métodos analizados.

	X	SD
Método de referencia	9.539 mmol/L	1.85
Spotchem EL	9.768 mmol/L	1.76
Reflotron	7.883 mmol/L	1.49

X = media SD = desviación estándar

TABLA II: Diferencias de valores medios de **potasio** entre métodos.

	X	SD	IC95%	R	P
Método de referencia-Spotchem EL	-0.228	0.985	-0.528-0.070	0.852	0.131
Método de referencia-Reflotron	1.656	1.126	1.313-1.998	0.794	0.000
Método Spotchem EL-Reflotron	1.885	0.895	1.612-2.157	0.861	0.000

X= media, SD= desviación estándar, IC = intervalo de confianza, P = significación estadística, R = coeficiente de correlación.

TABLA III: Valores medios de **colesterol** en los tres métodos.

	X	SD
Método de referencia	184.2 mg/dL	80.7
Spotchem EZ	142.1 mg/dL	57.5
Reflotron	145.2 mg/dL	43.01

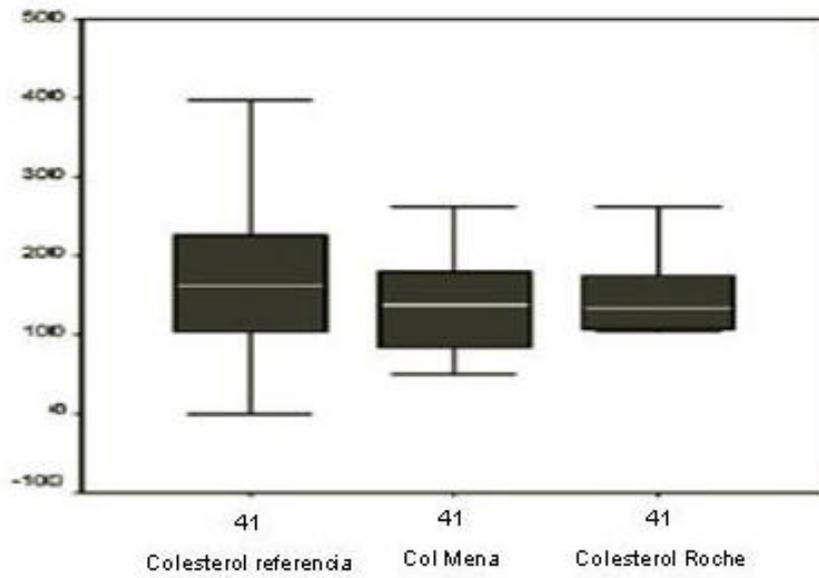
X = media SD = desviación estándar

TABLA IV: Diferencias de valores medios de **colesterol** entre métodos.

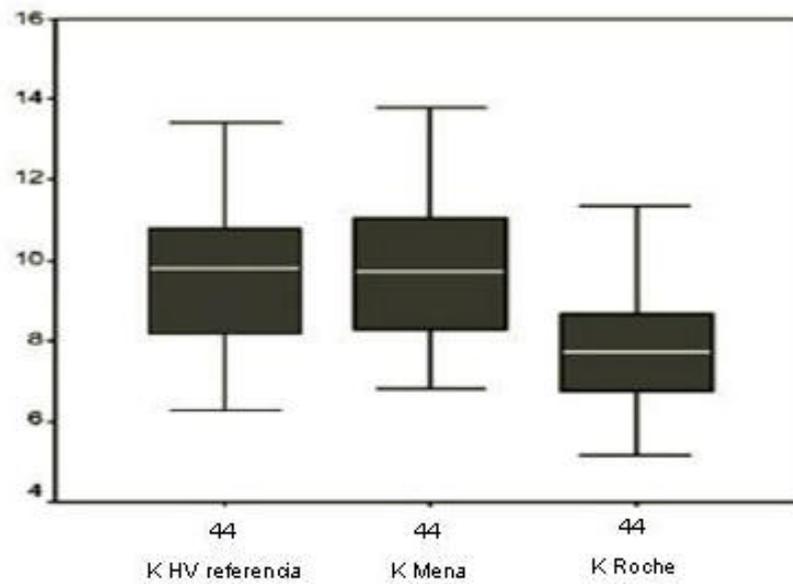
	X	SD	IC	R	P
Método de referencia-Spotchem EZ	42.16 mg/dL	52.28	24.98-59.35	0.744	0.000
Método de referencia-Reflotron	39.06 mg/dL	58.01	19.99-58.13	0.674	0.000
Método Spotchem EZ-Reflotron	3.11 mg/dL	33.36	-7.86-14.07	0.788	0.570

X= media, SD = desviación estándar, IC = intervalo de confianza, P = significación estadística, R = coeficiente de correlación.

Colesterol por tres métodos



Potasio por tres métodos



4.5 DISCUSIÓN:

Los componentes bioquímicos analizados se eligieron por su interés y aplicabilidad en medicina forense. Dentro de nuestros objetivos primarios de obtener unos resultados y de los objetivos secundarios de evaluarlos u obtener información, en nuestro estudio se halló que los valores de glucosa en humor vítreo fueron muy bajos. El descenso rápido de la glucosa *post mortem* en sangre y humor vítreo es conocido de antiguo y solo cifras superiores a 200 mg/dl en el humor vítreo pueden indicar un estado anterior hiperglucémico¹⁹. En las muestras tratadas en ningún caso se obtuvieron cifras superiores a 100mg/dl. Más reciente es el estudio *post mortem* de la elevación de las creatincinasas en líquido pericárdico que puede relacionarse con muertes de origen cardiaco ^{20, 21, 22}. En nuestro estudio no se comparó el resultado con la causa de la muerte u otras variables que pudieran suponer un ascenso de las creatincinasas, al no ser el principal objetivo del estudio. No obstante la elevación sistemática en todas las muestras hace difícil esta interpretación, ya que no en todos los casos se correspondían con muertes cardiacas.

Otro constituyente de utilidad en bioquímica *post mortem* es el colesterol. Se considera estable *post mortem* en las primeras horas^{23, 24 25} y su valor puede relacionarse con estados patológicos previos de hiperlipemia que supongan un factor de comorbilidad en las causas de la muerte o un factor de riesgo familiar a valorar en la muerte súbita. Sin embargo no todos los métodos analíticos del colesterol aseguran unos resultados totalmente fiables. Hart y col, en un estudio realizado con tecnología de química seca y reacción colorimétrica (Ektachem 700) cuestionan los resultados obtenidos ²⁶. Los resultados presentan diferencias significativas entre los valores de los dos métodos ensayados y el de referencia ($p = 0,000$). No hay diferencias entre los dos primeros métodos a comparar ($p = 0,570$). En relación con el potasio, en medicina forense, su determinación en humor vítreo se realiza desde hace tiempo. Una de sus aplicaciones es valorar alteraciones de los electrolitos, en unión del cloro y el sodio, que puedan orientar a cuadros metabólicos, estados de deshidratación u otras patologías. Su principal

estudio en medicina legal es la determinación de la data de la muerte. La metodología analítica del potasio se realiza por varios métodos, los más frecuentes son la potenciometría y la fotometría de llama. Según los métodos utilizados puede haber algunas diferencias en los resultados ²⁷ Ferslew propuso el análisis por ion capilar, electroforesis capilar con buena correlación con la potenciometría directa con ion selectivo ²⁸. Los valores de potasio con el método evaluado Spotchem EL no aportan diferencias significativas con el método de referencia ($p=0,131$) pero la correlación es de 0,852. La evaluación de la ecuación de regresión da un IC de la pendiente de 0,655-0,964 y un IC de intercepción de 0,541-3,546²⁹. La importancia de diferentes resultados analíticos va en función de la precisión que requiere el elemento de estudio. Pequeñas variaciones en cifras altas de glucosa o colesterol no tienen la relevancia que pueden tener en los valores de los electrolitos. Si el potasio se evalúa para determinar la data de la muerte, estas pequeñas variaciones pueden implicar aún mayor margen de error del que ya puede existir al aplicar las distintas fórmulas establecidas a este fin³⁰. En conclusión los resultados obtenidos con estos sistemas de análisis de química seca, no validados para muestras *post mortem*, no permiten considerar su utilidad en el medio forense. No obstante su utilización y fiabilidad en la clínica viene avalada por una amplia difusión³¹.

DISCUSIÓN.

Hoy en día es importante conocer métodos que lleven a la rápida resolución de un problema legal, en este caso de una muerte. En los cambios bioquímicos del cuerpo *post mortem*, es necesario conocer que fluidos biológicos se pueden tomar en cuenta o pueden ser considerados como más confiables para la determinación, claro también se debe de considerar el orden de confiabilidad, desde el que tenga mayor grado de confiabilidad hasta el que tenga el menor grado de confiabilidad, por ejemplo, puede ocurrir que a veces no se pueda tomar la muestra de humor vítreo y sea necesario recurrir a un segundo fluido como la sangre. Es importante también el saber que equipos de análisis químicos son los mejores para la determinación de la concentración del analito o analitos para que los resultados sean confiables.

Todas las investigaciones que se han realizado sobre los diferentes cambios bioquímicos en el cuerpo humano, han sido para comprender el mecanismo bioquímico o el proceso en el cual se ven aumentados o disminuidos los metabolitos conforme pasa el tiempo. Sin embargo se han dado cuenta que con ellos se puede dar a conocer el tiempo en el cual una persona dejó de vivir. Algunas investigaciones han dado inicio a este método, realizando estudios sobre cual es la técnica más confiable para analizarlos y de esta forma han creado ecuaciones de cálculo para determinar el tiempo de muerte, también han estudiado cual sería el mejor lugar para la toma de muestra, así como el fluido corporal en donde se encuentran significativamente estos cambios, todo esto para crear las ecuaciones con la mejor confiabilidad y reproducibilidad.

En el presente trabajo se recopiló información de los procesos bioquímicos que suceden en el cuerpo "*post mortem*" con la finalidad de establecer el tiempo de

muerte. Uno de ellos fue la rigidez cadavérica o *rigor mortem*, que puede establecerse el tiempo de muerte por la concentración en la producción de ADP, pero con mayor facilidad se puede determinar mediante las características físicas que sufre el cuerpo, sin embargo no deja de ser un proceso bioquímico el que sucede para que el cadáver tenga este cambio. Está demostrado que este acontecimiento es un proceso bioquímico, ya que el fenómeno comienza a partir de la destrucción del ácido adenosintrifosfato, que pasa a ácido adenosindifosfato y liberándose finalmente una molécula de ácido fosfórico, que es lo que causa realmente la rigidez cadavérica, a pesar de que en la práctica, no se determina la concentración de este ácido para saber el tiempo de muerte, la evolución de este fenómeno bioquímico es el que nos permite calcularlo.

La autólisis es el primer fenómeno cadavérico tardío presente en un cuerpo *post mortem*, e implica un proceso bioquímico celular efectuado por la acción de las enzimas celulares (hidrasas y oxidoreductasas), provocando necrosis celular, lo que conlleva cambios en los organelos celulares, que pueden ser estudiados con ayuda del microscopio. Estas alteraciones nos podrían ayudar en la determinación del tiempo de muerte, ya que se ha encontrado cambios a nivel celular con respecto al tiempo y son los siguientes: La continuidad del retículo agranular (retículo endoplásmico liso) se rompe casi inmediatamente después de la muerte. El retículo endoplásmico granular (retículo endoplásmico rugoso) se muestra más resistente, observándose intacto después de 48 h *post mortem*, cuando la degradación de las mitocondrias y de otras estructuras de la membrana se encuentra muy avanzada. Órganos, como el hígado y el riñón, extraídos 3 h después de la muerte a la temperatura ordinaria, apenas muestran diferencias en su estructura histológica con respecto a órganos fijados inmediatamente después de la muerte (tales resultados sugieren que para muchos tejidos no hay tanta urgencia para la fijación). A intervalos de tiempo ulteriores, de 4 a 6 h, el plasmolema y el retículo granular presentan ya cambios regresivos y las mitocondrias se hinchan adquiriendo forma redondeada. A las 10 h las

mitocondrias están dilatadas y netamente alteradas a nivel de la estructura interna, pese a lo cual conservan un 50% de su actividad succinoxidásica.

Asimismo se encontró que la determinación de algunos analitos nos permiten establecer el tiempo de muerte, como la glucosa, ya que su concentración va disminuyendo a través del tiempo y mediante este proceso y con la ecuación establecida para esta determinación se puede calcular el tiempo de muerte, su obtención es fácil, ya que se puede tomar muestra de sangre o de humor vítreo para su determinación de su concentración y sustituirla en la ecuación para saber el tiempo en el que el sujeto falleció.

Con respecto a los compuestos nitrogenados, se sabe que las proteínas en sangre, como la albumina, sufren un ligero descenso debido a la escisión de la molécula compleja, que se transforma primero en albumosas, pasando luego a peptonas y finalmente, a polipéptidos y aminoácidos y por el contrario un incremento las betaglobulinas debido a la hemólisis, mientras que las otras fracciones permanecerían estables.

Por otro lado los aminoácidos se incrementan como causa de la proteólisis, sin embargo la urea, es un analito que desciende después de la muerte y se puede determinar su concentración fácilmente y de igual forma que la glucosa, hay una ecuación para establecer el tiempo de muerte y la muestra se toma de la sangre.

En los lípidos se ha demostrado que tanto el colesterol como los ácidos grasos son de suma importancia para la determinación del tiempo de muerte. Sin embargo, los ácidos grasos son los que tienen publicada una ecuación de la cual se puede realizar la determinación del tiempo de muerte mediante el aumento de éstos, aunque no se pudo encontrar información de un método de referencia para determinar su concentración, no dejan de ser importantes para este propósito.

El magnesio, a pesar de aumentar su concentración es un ion que se puede determinar hasta que se lleva a cabo la hemólisis, por lo que sirve para una determinación tardía del tiempo de muerte, aunque en el trabajo solo se habla de que se utiliza más confiablemente en las muertes por sumersión, por lo tanto esto no ayuda a utilizarlo como un analito confiable para otro tipo de muertes.

Tanto el potasio como el sodio, el mejor lugar para su determinación con más confiabilidad es el humor vítreo, aunque se sabe que el sodio y el potasio tienden a aumentar su concentración *post mortem*, solo se encontró fórmula para la determinación del tiempo de muerte del potasio, el cual también tiene un respaldo con la investigación en la valoración de los métodos para la cuantificación de este ion en humor vítreo, por lo que es un analito muy confiable para el propósito de la determinación del tiempo de muerte.

Con respecto al estudio que evalúa los tres métodos para determinar la concentración de glucosa, potasio, colesterol y CK, a pesar de que se realizaron las pruebas, no se logro obtener resultados confiables, principalmente por que la concentración de la glucosa y la CK no alcanzaban los valores necesarios para su determinación en los aparatos con los que se trabajo, esto debido a que disminuía su concentración *post mortem* y la mayoría de las muertes no eran por infartos cardiacos que es cuando se manifestaba más la CK. Por otro lado, el sodio y el potasio no daban resultados confiables debido al índice de confianza, ya que una pequeña variación en la determinación podría provocar un resultado no confiable.

CONCLUSIONES

Se describieron los cambios bioquímicos *post mortem* más importantes que ocurren en el cuerpo humano: la rigidez cadavérica (*rigos mortem*), la autólisis, los cambios de la concentración de glucosa, la degradación de las proteínas y sus derivadas bases nitrogenadas, los lípidos y algunos electrolitos, en los cuales nos podemos apoyar para averiguar el tiempo de muerte que lleva un cadáver, de esta manera se podrían tomar los de mayor interés para llevar a cabo una averiguación, dependiendo de la manera en que aconteció la muerte o el lugar de toma de muestra que sea más accesible para el análisis.

Se encontró que hay analitos como la glucosa, urea y ácidos grasos que tienen una fórmula ya establecida para calcular el tiempo de muerte, únicamente sustituyendo la concentración del analito y de esta forma llevar a cabo el cálculo del tiempo de muerte. Sin embargo se recomienda verificar este cálculo experimentalmente para comprobar al 100% las fórmulas. Por otro lado otros analitos solo demuestran una disminución o aumento en su concentración conforme pasa el tiempo de muerte y de esta forma calcular el tiempo en que falleció.

A pesar de que se han investigado varios procesos bioquímicos *post mortem* tanto para conocer la causa como el tiempo de muerte, todos ellos son aislados sin el interés de conjuntarlos para crear una batería de pruebas con la que se pueda contar, para una determinación del tiempo de muerte.

Se espera que este trabajo sirva de orientación para aquellas personas que se dedican al ámbito forense para que se tomen en cuenta los cambios bioquímicos

como una herramienta en la utilización del esclarecimiento de los crímenes y así dar una pronta resolución legal. Sin embargo se requiere recopilar más información, ya que este trabajo solo es como una introducción a un campo de estudio que es un mundo de conocimientos y que nunca va a tener fin en su investigación.

REFERENCIAS

- 1.-Wijdicks, E, F.: The diagnosis of brain death. N Engl. J Med, 233(16), 2001; 1215-1221
- 2.-Gisbert Calabui, J.A.: Medicina Legal y toxicología, 6ªed. España: Masson; 2004; 191-212.
- 3.-Ropper, A. H.: Kennedy, S.K., y Russel, L.: Apnea testing in the diagnosis of brain death. Clinical and physiological observations: neurosurgery, 55, 1981; 942-946.
- 4.-Oliveira de SA. F.M. Cronotanatognosis. Tesis doctoral. Universidad de Coímbra. Coímbra. 1966.
- 5.-Moreno Vazquez, J. M., y Rodríguez Albariño, A.: Síndrome de muerte cerebral, Aspectos conceptuales, clínicos y diagnósticos. Rev. Esp. Neurol, 2 (6),1987; 321-325.
- 6.-Hamilton-Paterson J.L. JohnsonE.W.; *Post mortem* Glycolysis. J. Pathol. Bacteriol.50.1940.
- 7.-Couzin, J.: Biomedical ethics, Study of brain dead sparks debate. Science 255(5558), 2002; 1210-1211.
- 8.-NaumannH. Studies of post mortem chemystri. Pathol, 20. 1950; 314-324.
- 9.-CoeJ. Postmortem chemistry update. Am J Forensic Med Pathol 1993; 14 (2). 91-117.
- 10.-Rochazka, A. E.: y Ciganek, L.: The diagnostic value of midriasis in cerebral death. Phronesis. Rev. Neurol, Neurocir, Psychiart. 10, 1971; 321-324.
- 11.-Abdiel G. E. Tesis. Estudios de los fenómenos cadavéricos tardios: autólisis, putrefacción y antropofagia cadavérica. México, D.F. 2008; 42,43.
- 12.-Luna A. Villanueva y Jiménez G. Evolución post mortem de proteínas totales, fracciones proteicas, urea y creatinina. Zacchia 16. 1980; 434-443.
- 13.-Metabolismo de los lípidos. <http://www.metabolismo, lípidos.com>. Marzo 2008.
- 14.-La chica E. Villanueva y Luna A. Regional study of the fatty acid and free acid carnitin behaviours in cardiac tissue in relation to different causes of death. Forensic Sci, 17. 1981; 109-120.

15.-Cambios bioquímicos *post mortem*. http://www.bioquimica.post_mortem.com. Marzo. 2008.

16.-Jiménez G, Luna A, Villanueva E. Etude du comportement postmortem de catécholamines totales, adrénaline et noradrénaline dans le liquide péricardique, en relation avec la cause de décès et la durée de l'agonie. *J Medical Legal Droit Medical* 1988; 31: 251-259

17.-Meyer D, Meyers R, Prendegast T. The usefulness of diagnostic tests in pericardial fluid. *Chest* 1997; 111 (5): 1156-1157

18.-Pérez Cárceles M, Osuna E, Vieira D, Martínez A, Luna A. Biochemical assesment of acute myocardial ischemia. *J Clin pathol* 1995; 48 (2): 124-128.

19.-Luna A, Villanueva E, Castellano M, Jiménez G. The determination of CK, LDH and its isoenzymes in periacrdial fluid and its application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Forensic Sci Int* 1982 Jan-Feb;19 (1):85-91

20.-Burns J, Milroy C, Hulewicz B, Walkley S, Robberts N. Necropsy study of association between sudden death and cardiac enzymes. *J Clin Pathol* 1992 Mar; 45 (3):217-20

21.-Osuna E, Pérez Cárceles M, Vieira D, Luna A. Distribution of biochemical markers in biologic fluids: application to the diagnosis of myocardial infarction. *Am J Forensic Med Pathol* 1998 Jun; 19 (2): 123-8

22.-Freedman D, Wattigney W, Srinivassan S, Newman W, Tracy R, Byerst T, Berenson G. The relation of atherosclerotic lesions to antemortem and postmortem lipid levels. The Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis* 1993 Dec; 104 (1-2):37-46

23.-Glanville J. Postmortem serun cholesterol levels. *Br Med J* 1960; 2: 1862.

24.-Honick C, Baker H, Malcom G, Newman W, Roheion P, Strong J. Lipoproteins and apolipoproteins in postmortem serun. *Mod Pathol* 1988; 1:480

25.-Hart A, Zunwalt R, Dasgupta A. Postmortem lipid levels for tha analysis of risk factors of sudden death; usefulness of the Ektachem and Monarch analyzes. *Am J Forensic Med Pathol* 1997 Dec; 18 (4):354-9

26.-Métodos químicos para el cálculo de la data de la muerte. En Casas J, Rodríguez S. *Medicina Legal*. Ed Colex. Madrid 2000 : 1125

27.-Ferslew K, Hagarodon A, Harrison M, Mc Cornuck W. Capillary ion analisis of potassiun concentrations in human vitreous. *Electrophoresis* 1988; 19: 6-10

28.-Javier Grandini González. Medicina Forense. México D.F.: Mc Graw-Hill; 2000.

29.-Bernard Knight. Medicina Forense de Simpson.. México D.F.: Manual Moderno; 1994.

30.-Eduardo Vargas Alvaro. Medicina forense y Deontología médica. México D.F.: Trillas; 1991.

31.-Spark D.L. Slevin J.T.Hunsaker. 3-Methoxytyramine in the putamen as a gauge of the post mortem interval, Journal of Forensic Sciences. 1980.