

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER:

**APLICACIÓN DE LA BIOQUÍMICA POST  
MÓRTEM PARA LA ESTIMACIÓN DEL  
INTERVALO POST MÓRTEM (IPM)**



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Máster en Genética, Física y Química Forense

Andrea Abascal Sabaté

Tuto académico: Ximena Terra Barbadora

Año académico: 2021-22

Junio 2022, Tarragona

Universidad Rovira i Virgili

# ÍNDICE

RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	4
ABREVIATURAS .....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
1.1. Bioquímica post mórtem.....	6
1.2. Intervalo post mórtem (IPM) .....	6
1.3. Aproximaciones actuales para la estimación del IPM .....	7
1.3.1. Fenómenos cadavéricos .....	7
1.3.2. Entomología forense.....	10
1.4. Bioquímica post mórtem como técnica en desarrollo.....	12
1.5. Importancia forense del IPM .....	13
2. OBJETIVO .....	13
3. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA .....	13
4. ESTUDIOS BIOQUÍMICOS FORENSES PARA LA ESTIMACIÓN DEL IPM	14
4.1. Cambios bioquímicos post mórtem .....	14
4.2. Muestras de elección.....	16
4.3. Electrolitos como indicadores del IPM.....	17
4.4. Macromoléculas como indicadores del IPM: ácidos nucleicos y proteínas ....	20
5. INCONVENIENTES DE LA BIOQUÍMICA POST MÓRTEM .....	22
6. CONCLUSIONES .....	23
7. BIBLIOGRAFÍA .....	24

## RESUMEN

El intervalo post mórtem (IPM) se define como “la cantidad de tiempo que ha transcurrido desde la muerte del difunto hasta el momento de la autopsia”. La estimación del IPM tiene una elevada importancia dentro de la Medicina Legal, pero es un valor difícil de estimar ya que se ve afectado por muchos factores, tanto intrínsecos como extrínsecos. Actualmente los métodos más utilizados para la estimación del IPM son la evaluación de temperatura cadavérica (algor mortis), la lividez post mórtem (livor mortis), la rigidez muscular (rigor mortis) y la entomología forense. En los últimos años ha surgido una nueva línea de investigación para la estimación del IPM, la bioquímica post mórtem. La bioquímica post mórtem o tanatoquímica evalúa los cambios que se producen en la composición química de los fluidos biológicos corporales después de la muerte. Principalmente se evalúan los electrolitos en fluidos como el humor vítreo, líquido sinovial o líquido cefalorraquídeo, aunque recientemente se han realizado varios estudios prometedores como ensayos inmunohistoquímicos o estudios proteómicos.

Esta revisión bibliográfica tiene como principal objetivo analizar los diferentes métodos bioquímicos utilizados para la estimación del IPM. Además, se revisarán novedosas investigaciones dentro de la bioquímica post mórtem y se analizarán tanto sus ventajas como inconvenientes. Para ello, se han consultado como fuentes de información bases de datos como Pubmed o Google Scholar, donde se han encontrado los artículos utilizados.

Tras la revisión de información científica seleccionada, se establece como principal método bioquímico para la estimación del IPM el análisis de potasio ( $K^+$ ) en el humor vítreo. Recientes investigaciones proponen estudios proteómicos e inmunohistoquímicos de diferentes tejidos (óseo o miocardio) como posibles métodos para una estimación del IPM más precisa. A pesar de que actualmente existen numerosos métodos para la estimación del IPM, sigue siendo necesario un método validado que sea preciso y universal.

**Palabras clave:** intervalo post mórtem, bioquímica post mórtem, marcadores bioquímicos post mórtem, potasio.

## **ABSTRACT**

The postmortem interval (PMI) is defined as "the amount of time that has elapsed since the death of the deceased". The estimation of the PMI has a high importance within Legal Medicine, but it is a difficult value to estimate since it is affected by many factors, both intrinsic and extrinsic. Currently the most used methods for the estimation of PMI are the assessment of cadaveric temperature (algor mortis), postmortem lividity (livor mortis), muscle stiffness (rigor mortis) and forensic entomology. In recent years, a new line of research has emerged for the estimation of PMI, postmortem biochemistry. Post-mortem biochemistry, or thanatochemistry, evaluates the changes that occur in the chemical composition of biological body fluids after death. Mainly electrolytes in fluids such as vitreous humor, synovial fluid or cerebrospinal fluid are evaluated, although recently several promising studies such as immunohistochemical assays or proteomic studies have been performed.

The main objective of this literature review is to analyze the different biochemical methods used for the estimation of PMI. In addition, new research in post-mortem biochemistry will be reviewed and its advantages and disadvantages will be analyzed. For this purpose, databases such as Pubmed or Google Scholar have been consulted to obtain the scientific articles from which the information has been extracted.

From all the scientific information reviewed, potassium ( $K^+$ ) analysis in the vitreous humor is established as the main biochemical method for the estimation of PMI. Recent studies propose proteomic and immunohistochemical studies as possible methods for a more accurate PMI estimation. Despite the numerous methods, the estimation of PMI is still under study due to the lack of a validated method that is supposed to be accurate and universal.

**Key words:** postmortem interval, postmortem biochemistry, postmortem biochemical markers, potassium.

## **ABREVIATURAS**

IPM	Intervalo post mórtem
ATP	Trifosfato adenosina
MBP	Marcadores bioquímicos post mórtem
LS	Líquido sinovial
LCR	Líquido ceforraquídeo
Hx	Hipoxantina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
PCR	Reacción cadena de la polimerasa
MCA	Análisis de correspondencia múltiple
cTnC	Troponina C cardíaca

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1. Bioquímica post mórtem**

La bioquímica post mórtem, también denominada tanatoquímica, evalúa los cambios que se producen en la composición química de los fluidos biológicos corporales después de la muerte. Es decir, estudia la evolución de las transformaciones bioquímicas que ocurren en un cadáver y su evolución en el tiempo (1). Por lo tanto, conocer y entender la aparición y progresión de los cambios post mórtem es esencial para una correcta estimación del intervalo post mórtem (IPM) (2).

Cabe destacar la diferencia entre bioquímica forense y bioquímica post mórtem. Ambas disciplinas tienen su aplicación en el sistema legal para contribuir al esclarecimiento o resolución de los hechos delictivos. Sin embargo, la bioquímica forense trataría cualquier delito donde existan indicios de origen biológico, mientras que la bioquímica post mórtem se centraría en el estudio de los fluidos corporales en un cadáver (1).

Actualmente la bioquímica post mórtem se centra en descubrir cuál ha sido la causa de muerte, así como el tiempo transcurrido desde el fallecimiento. Se estima que su aplicación ha contribuido a resolver hasta el 10% de las muertes naturales (3). Sin embargo, a pesar del enorme potencial de esta disciplina, los métodos bioquímicos post mórtem todavía tienen poca influencia en las autopsias rutinarias. Sus principales inconvenientes son la dificultad para interpretar los resultados de los análisis, la ausencia de bases de datos con suficiente información, así como el insuficiente conocimiento sobre los cambios bioquímicos post mórtem (4).

## **1.2. Intervalo post mórtem (IPM)**

El intervalo post mórtem (IPM) es un importante desafío que resolver en patología forense, y consiste en poder determinar el tiempo transcurrido desde la muerte hasta el momento de la autopsia. Es una herramienta esencial en las investigaciones forenses y tiene una gran importancia en ciertos casos a la hora de incriminar o absolver a un sospechoso (2, 5).

La estimación del IPM es una de las tareas más complicadas en la Medicina Legal actualmente ya que no existe un método que sea completamente exacto para ello. Cuanto

más prolongado es el IPM, menos precisa es la estimación y, por ello, es importante utilizar aquellos métodos adecuados a las circunstancias (2).

Las técnicas más utilizadas para la estimación del IPM se basan en el estudio de parámetros como la temperatura rectal del cadáver o de alguno de sus órganos, en el examen del rigor mortis, en las livideces cadavéricas o, para cadáveres tardíos, mediante la entomología forense. Hoy en día, todavía la determinación del IPM sigue siendo objetivo de discusión por lo que, numerosos investigadores continúan buscando un método que mejore la precisión sin renunciar a la fiabilidad de este (2).

### **1.3.Aproximaciones actuales para la estimación del IPM**

Para una estimación del IPM óptima, es importante utilizar la técnica más precisa para cada caso. Por ejemplo, en cadáveres tempranos se suele estudiar la lividez y rigidez muscular, mientras que en los casos de cadáveres tardíos se utiliza la entomología forense o el análisis de las etapas de descomposición cadavérica más avanzadas (6).

#### **1.3.1. Fenómenos cadavéricos**

Según Luy y Ramírez (7) los fenómenos cadavéricos son los cambios y transformaciones que sufre un cuerpo desde la muerte hasta su descomposición total. Los dividen en fenómenos cadavéricos tempranos o abióticos y fenómenos cadavéricos tardíos o mediatos. Aunque otros autores diferencian tres etapas de cambios: inmediatos, tempranos y tardíos (2).

Los cambios post mórtem inmediatos se relacionan con la interrupción de las funciones vitales y son útiles para diagnosticar la muerte basándose en la parada del sistema respiratorio, circulatorio y nervioso. Por ejemplo, el cese de la respiración provoca la pérdida de los movimientos y sonidos respiratorios. Cambios fácilmente detectables con métodos tradicionales como la prueba de la pluma o la prueba del espejo (2).

Los cambios post mórtem tempranos ocurren en las primeras 24 horas tras la muerte, antes de la ruptura de tejidos blandos (2, 8). Se destacan tres cambios con relevancia forense:

- **Algor mortis** (2). Hace referencia al enfriamiento del cadáver hasta que se iguala la temperatura del entorno. El enfriamiento inicial es lento, después se vuelve lineal y, por último, disminuye formando una curva sigmoideal cuando se representa gráficamente. La tasa de enfriamiento se ve influenciada por varios factores como la temperatura corporal en el momento de la muerte y la temperatura del entorno. Además, este proceso ocurrirá más rápido si el cadáver está en el agua, desnudo o tiene poca grasa.
- **Livor mortis** (2). Cuando el sistema circulatorio deja de funcionar, la sangre queda sometida a la fuerza de gravedad. Esto provoca una coloración violácea en la piel debido a la acumulación de la sangre en las zonas inclinadas o pendientes, conocido como livor mortis. En algunas ocasiones se puede observar débilmente una hora después de la muerte. Sin embargo, lo usual es que sea evidente a partir de las tres o cuatro horas tras la muerte, alcanzando su máxima intensidad entre las 8 horas y se fijan las livideces a las 13 horas aproximadamente. Pasadas las 24 horas post mórtem ya no se forman nuevas livideces.

En los casos de intoxicación con monóxido de carbono o en refrigeraciones prolongadas, las livideces pueden tener un color poco habitual. En muertes por fallos cardíacos, las livideces pueden llegar a desarrollarse antes de la muerte. Estas circunstancias se consideran factores modificadores ya que pueden llevar a una estimación del IPM errónea (9).

- **Rigor mortis** (2). Es un estado en el que el cuerpo se encoge totalmente debido a la fuerte contracción de los músculos. Después de la muerte se agota el trifosfato adenosina (ATP) y, posteriormente, se acumula el lactato en el tejido muscular. Esto provoca la incapacidad para liberar el enlace actina-miosina. La rigidez corporal se aprecia antes, durante la primera hora post mórtem, en los músculos más pequeños como los faciales. En el resto de los músculos se observa a partir de las 6 horas tras la muerte hasta las 12 horas post mórtem, aproximadamente, ya que después los músculos adquieren un estado flácido debido a la descomposición enzimática de los sitios de unión de actina y miosina. El rigor mortis se ve afectado principalmente por la temperatura, un ambiente frío alarga el proceso mientras que temperaturas elevadas lo aceleran ya que la putrefacción ocurre antes.

Por último, los fenómenos cadavéricos tardíos se pueden dividir en procesos destructores, la descomposición, y procesos conservadores (naturales o artificiales) (7).

En la descomposición están involucrados dos mecanismos: la autólisis y la putrefacción (10). La autólisis se define como la ruptura de los tejidos debido a la liberación de las enzimas celulares hidrolíticas. Esto provoca la liberación del contenido celular y con ello se forma un entorno adecuado para la proliferación de microbios, normalmente presentes en la microbiota humana. Estos microorganismos degradan los tejidos circundantes, proceso conocido como putrefacción (11). Los cambios provocados por la autólisis solo son visibles a nivel microscópico, mientras que las consecuencias de la putrefacción se pueden observar a nivel macroscópico, como por ejemplo hinchazón corporal o decoloración de la piel (2).

La descomposición se puede dividir en cinco etapas: fresca, hinchada, descomposición activa, descomposición avanzada y etapa esquelética (2, 12).

La etapa fresca es el periodo inmediato posterior a la muerte, cuando ocurre la autólisis. En esta fase se pueden observar los fenómenos citados anteriormente algor mortis, livor mortis y rigor mortis. También se puede observar decoloración cutánea debido a la putrefacción, visible a partir de las 18 horas post mórtem (12).

En el proceso de putrefacción se producen gases y otros compuestos que provocan la hinchazón del cadáver, conocida como fase hinchada del proceso de descomposición. En esta etapa también ocurre la formación de ampollas, el *degloving* (deslizamiento de la piel en las extremidades). Estos cambios ocurren entre 24 y 48 horas post mórtem (2).

En la etapa de descomposición activa se acelera la putrefacción. Se pueden observar fenómenos como la salida de los fluidos corporales, el desprendimiento del cabello y la piel rota con color negro. Mientras que en la descomposición avanzada es una etapa en la que los huesos comienzan a estar expuestos. En estas etapas aún resiste el cartílago (2).

La etapa esquelética se caracteriza porque la mayor parte de los huesos están expuestos, pero aún no se han descompuesto. El cartílago ha desaparecido casi por completo. La descomposición total de los restos óseos puede tardar años o décadas (2, 13).

Las diferentes etapas de la descomposición pueden ocurrir simultáneamente en diferentes partes del mismo cadáver, y puede ser difícil para un patólogo forense etiquetar el estado del cadáver con una sola etapa (2).

En algunas ocasiones, después de la muerte, el cuerpo se puede conservar de forma natural o artificial. Algunos de estos procesos de conservación natural, como la momificación o la formación de la adipocira, se han utilizado para la determinación del IPM (2).

Si el cadáver se encuentra en un ambiente cálido y seco puede ocurrir la momificación, la desecación del cadáver debido a la evaporación del agua de sus tejidos. La piel del cadáver se oscurece, se seca y tiene un aspecto correoso. Puede ocurrir en todo el cadáver o en algunas partes, normalmente en las extremidades. Por el contrario, la formación de la adipocira ocurre en ambientes húmedos, como inmersiones en agua. La adipocira es una sustancia orgánica, similar a la cera, formada por la hidrólisis bacteriana anaerobia de la grasa corporal (2). La formación de la adipocira comienza después del mes post mortem y, en ausencia de aire, puede persistir durante años. En la ciencia forense, la formación de la adipocira se utiliza para la estimación del IPM, pero es limitada debido a que la velocidad del proceso depende de la temperatura, se acelera por el calor, pero las temperaturas extremas la impiden (14).

### 1.3.2. Entomología forense

La entomología forense es la ciencia de coleccionar y analizar la evidencia de insectos para ayudar en las investigaciones forenses, principalmente la determinación del tiempo mínimo desde la muerte. Se realiza mediante la estimación de la edad de los insectos o analizando las especies de insectos que se encuentran sobre el cadáver (2, 15).

Los insectos pueden ser útiles para la estimación del IPM durante un periodo extenso, al contrario que los procesos naturales asociados a la descomposición (rigor mortis, livor mortis y algor mortis), que se limitan a las primeras 72 horas (15).

Smith (16) propuso cuatro categorías de insectos que se pueden encontrar en los cadáveres:

- Especies necrófagas que se alimentan de tejido muerto. Las moscas azules (*Calliphoridae*) son los primeros insectos atraídos por un cadáver (15).
- Depredadores y parásitos de insectos y otros artrópodos.
- Especies omnívoras (avispas, hormigas y algunos escarabajos) que utilizan el cadáver como fuente de alimento si está disponible.
- Especies adventicias que son específicas del hábitat de la escena del crimen y se limitan a utilizar el cadáver como una extensión de ese hábitat.

Para estimar el IPM partir de patrones de sucesión, los entomólogos forenses utilizan principalmente los dos primeros grupos de insectos para llegar a un cadáver. Esta sucesión de artrópodos es predecible ya que cada estadio de la putrefacción de un cadáver atrae selectivamente a una especie determinada. Por ejemplo, las moscas azules prefieren cadáveres frescos y dominan durante los primeros días y semanas de descomposición; mientras que varios coleópteros, como los escarabajos, están adaptados para utilizar alimentos secos como piel e incluso pelos y huesos y por ello tienden a ser atraídos hasta las últimas etapas de descomposición (15). A continuación, se muestra una tabla (Tabla 1) donde aparece la sucesión de artrópodos en las diferentes etapas de descomposición.

Tabla 1. Sucesión de artrópodos en las diferentes fases de descomposición (tiempo expresado en días) (17).

Orden/Familia	ESTADOS DE DESCOMPOSICIÓN																										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	20	30	40	50	60	80	100	150	365			
<b>Diptera</b>																											
Calliphoridae																											
Sarcophagidae																											
Muscidae																											
Piophilidae																											
Fanniidae																											
<b>Hymenoptera</b>																											
Vespidae																											
Formicidae																											
<b>Coleoptera</b>																											
Staphylinidae																											
Dermestidae																											
Histeridae																											
Scarabaeidae																											
Tenebrionidae																											
Cleridae																											
Silphidae																											
<b>Dermaptera</b>																											
<b>Collembola</b>																											
<b>Blattaria</b>																											

La entomología forense también puede estudiar la edad de los insectos presentes en el cadáver para estimar el IPM. Tarone et al. (18) investigó el patrón de expresión de tres genes mediante el análisis de huevos de *L. sericata* y pudo hacer predicciones sobre su edad debido a las tasas de expresión alteradas.

El estudio de los insectos puede ser útil durante un periodo mucho más prolongado pero la entomología forense también tiene sus inconvenientes. En entomología forense la determinación del IPM es en realidad la determinación de la actividad de los artrópodos, más que la determinación del tiempo en sí. Así es posible que en determinados casos que la data dada por el entomólogo no coincida con la data proporcionada por el médico forense; esto puede ocurrir, bien porque los insectos no hayan colonizado el cadáver en los primeros días después de producirse la muerte o por ejemplo en los casos de abandono y malos tratos en niños y ancianos pueden existir heridas y lesiones que por su falta de higiene sean colonizadas por los insectos antes de producirse la muerte de la persona. Así pues, para una correcta estimación del IPM mediante la entomología hay que tener en cuenta que cada caso es único y diferente de los demás (15, 17).

Otro inconveniente en la entomología forense es el calor generado por las decenas de miles de larvas que se alimentan de un cadáver, ya que este calor influye sobre su propio crecimiento. Por lo tanto, el uso de estudios de desarrollo y sucesión de insectos en los tribunales puede proporcionar una estimación confiable del tiempo mínimo desde la muerte, pero necesita un respaldo estadístico riguroso (15, 17).

#### **1.4. Bioquímica post mórtem como técnica en desarrollo**

En los últimos años se ha observado un aumento de la investigación sobre los marcadores bioquímicos post mórtem (MBP) para la determinación del IPM y se han desarrollado técnicas para ello. Estos “nuevos” métodos presentan ventajas sobre las pruebas clásicas como su simple metodología o la elevada precisión de las técnicas (6, 19). Por lo tanto, la bioquímica post mórtem puede considerarse novel en el ámbito de la determinación del IPM y, para un correcto uso, es vital conocer y comprender los cambios bioquímicos post mórtem.

### **1.5.Importancia forense del IPM**

Como ya se ha comentado, el IPM es una herramienta esencial en las investigaciones forenses ya que proporciona un tiempo estimado desde la muerte y es fundamental en los casos judiciales ya que puede ser relevante a la hora de incriminar o absolver a un sospechoso (2).

La estimación del IPM no debe basarse únicamente en un cambio post mórtem, sino que los cambios post mórtem deben evaluarse de forma conjunta a la hora de realizar conclusiones sobre el tiempo transcurrido tras la muerte (2).

Otro factor relevante es el médico forense ya que no debe confundir los cambios post mórtem que puedan observarse a simple vista, con signos de violencia física. Opiniones incorrectas o una mala interpretación pueden modificar la investigación hacia una dirección errónea, que incluso pueden terminar en un error judicial (2). Por este motivo, actualmente se están realizando múltiples estudios con el fin de eliminar la subjetividad en la determinación del IPM, entre los que se encuentra el uso de la bioquímica post mórtem.

## **2. OBJETIVO**

El objetivo principal de esta revisión bibliográfica es la recopilación de información sobre el uso de la bioquímica post mórtem para estimar el IPM. Además, al tratarse de una aplicación relativamente novedosa y poco habitual, se pretende analizar su potencial, tanto sus ventajas como inconvenientes, y valorar las diferentes metodologías utilizadas.

## **3. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA**

La literatura se recolectó realizando una búsqueda en PubMed y Google académico. La mayor parte de la búsqueda se realizó en inglés, palabras clave como “estimation postmortem interval” y algunos términos como: “postmortem biochemistry” y “tanatochemistry”.

Se incluyeron todos aquellos artículos de fuentes fiables que estuviesen relacionados con la estimación del IPM. Se excluyeron aquellas fuentes que no estaban relacionadas con el tema a tratar o no se consideraron atractivas a nivel científico. Todos estos documentos se encuentran numerados en la bibliografía de este trabajo y están ordenados por orden de aparición en el mismo.

Como criterio de búsqueda se tuvo en cuenta que la fecha de publicación de los artículos consultados no excediera los 10 años. Con ello se intenta que la información recolectada sea lo más actual posible, conociendo así las técnicas y procedimientos que se usan hoy en día. Cabe destacar que este criterio no se ha aplicado sobre alguna información de la introducción, como es el caso de los inicios de la bioquímica forense.

## **4. ESTUDIOS BIOQUÍMICOS FORENSES PARA LA ESTIMACIÓN DEL IPM**

### **4.1. Cambios bioquímicos post mórtem**

Los cambios bioquímicos post mórtem son principalmente provocados por la descomposición y desnaturalización de los tejidos, órganos y fluidos corporales humanos, por el cual las biomoléculas se van degradando. Estos cambios comienzan inmediatamente después de la muerte y se prolongan durante un periodo de tiempo (2).

El inicio y duración de estos cambios varía según factores intrínsecos y extrínsecos. Entre los factores intrínsecos se encuentran la masa corporal del fallecido y el área de superficie del cuerpo. Características como la ropa, aislamiento del cuerpo, el entorno de la escena o el almacenamiento del cuerpo son considerados factores extrínsecos que afectan a los cambios post mórtem (2). Por ejemplo, la criopreservación de los cuerpos favorece una extensa ruptura y hemólisis de las células sanguíneas, limitando el uso de las pruebas bioquímicas post mórtem (20).

Estos factores modifican el momento del inicio y la duración de los cambios post mórtem, acelerando o desacelerando dichos procesos. Por ejemplo, un elevado contenido en grasa corporal o heridas abiertas son factores que aceleran los cambios post mórtem, mientras

que condiciones ambientales frías, cuerpos desnudos o almacenamiento de los cadáveres en frío desaceleran (2).

Por lo tanto, los cambios bioquímicos post mórtem provocan que los valores de detección de muchos metabolitos difieran de los valores pre mórtem o clínicos. Estos valores no solo varían pre y post mórtem, sino que, además, también son diferentes según su distribución y según la muestra (15, 19). A estos metabolitos que varían su concentración tras la muerte se les denomina marcadores bioquímicos post mórtem (MBP) y son utilizados para el estudio de la causa de muerte y la estimación del IPM.

Los MBP más utilizados para el estudio de la causa de muerte son la glucosa, la urea, la creatinina, cuerpos cetónicos y la troponina T cardíaca (6, 19, 21-23). Sin embargo, para la estimación del IPM principalmente se estudian los electrolitos y la hipoxantina, aunque es cierto que otros metabolitos también se han evaluado con este fin sin llegar a conclusiones claras (5, 24, 25, 26). A continuación, se muestra una tabla (Tabla 2) resumen que relaciona los MBP y los fluidos donde han sido analizados, con el fin de estimar el IPM.

*Tabla 2. Marcadores bioquímicos post mórtem (MBP) y fluidos biológicos utilizados para su análisis.*

	<b>Humor vítreo</b>	<b>LS</b>	<b>LCR</b>	<b>Sangre</b>
<b>Potasio (K<sup>+</sup>)</b>	X	X	X	
<b>Hipoxantina (Hx)</b>	X			
<b>Sodio (Na<sup>+</sup>)</b>	X	X	X	
<b>Cloruro (Cl)</b>	X			
<b>Calcio (Ca<sup>2+</sup>)</b>	X		X	
<b>Magnesio (Mg<sup>2+</sup>)</b>	X			X
<b>Glucosa</b>	X		X	X
<b>Creatinina</b>	X		X	X
<b>Urea</b>	X		X	X
<b>3-β-Hidroxibutirato</b>				X
<b>Triptasa</b>				X
<b>Mioglobulina</b>				X
<b>Troponina T cardíaca</b>				X
<b>Creatina quinasa</b>				X

## **4.2.Muestras de elección**

Originalmente, se utilizaba la sangre como principal fluido biológico a partir del cual se estudiaba la causa de muerte y el intervalo post mórtem. Sin embargo, la sangre no es la mejor muestra para analíticas bioquímicas post mórtem ya que los cambios post mórtem afectan en los resultados e imposibilitan la evaluación de los datos. Esto se debe al aumento de permeabilidad de las membranas celulares para pequeñas moléculas inmediatamente después de la muerte. Además, la sangre está muy expuesta a la autólisis y la putrefacción (27).

Para vencer los inconvenientes que planteaban los estudios sanguíneos, se pasó a la investigación de otros líquidos y fluidos corporales que se encuentran en cavidades cerradas, aislados y bien protegidos por lo que su contaminación es menor y los cambios de putrefacción ocurren más lentamente, ampliando el periodo que puede utilizarse para estimar el intervalo post mórtem (1).

El principal fluido biológico utilizado en bioquímica forense para la estimación del IPM ha sido el humor vítreo. El humor vítreo es un líquido gelatinoso y transparente cuya función principal consiste en rellenar el espacio comprendido entre la superficie interna de la retina y la cara posterior del cristalino, manteniendo así la forma del globo ocular. Los componentes mayoritarios de este fluido son el colágeno y el ácido hialurónico (28).

Gracias a la localización aislada del humor vítreo, sus condiciones físicas y químicas son muy estables y, además, este aislamiento previene que microorganismos accedan a esta matriz. Otra ventaja de esta muestra es que debido a que se encuentra en un compartimiento periférico, hay un retraso tanto en la captación de drogas y alcohol, como en el proceso de eliminación de estos. Sin embargo, el análisis del humor vítreo puede conllevar algunos inconvenientes como una baja repetitividad debido a su elevada viscosidad (28). A pesar de ello, se ha llegado a usar para la estimación de la data de la muerte basándose en la concentración de potasio (1, 28, 29), el diagnóstico de la causa de muerte por hiperglucemia (30, 31) o la presencia de alcohol y otras drogas (28).

El líquido sinovial (LS) es un fluido viscoso, claro y amarillento que funciona como lubricante biológico de las articulaciones. El LS se produce como filtrado de la sangre y, por lo tanto, su composición es similar a la del plasma. Sin embargo, la membrana

sinovial actúa como membrana selectiva de tamaño y las moléculas de elevado peso molecular no pueden acceder a este fluido (32).

El líquido cefalorraquídeo (LCR) es un fluido transparente que se encuentra en el cerebro y la médula espinal. Sus principales funciones son la protección del sistema nervioso y la eliminación de productos de desecho. Se estima que su gradiente de concentración después de la pérdida de selectividad de la membrana es entre 15-20 horas, menor que la del humor vítreo (120 horas), pero mayor que el de la sangre, pocas horas post mórtem (33).

Ambos fluidos, tanto el LS como LCR, son muestras altamente conservadas, aunque el LS posee alguna ventaja. La toma de muestra del LS mediante aspiración es mucho más sencilla frente al LCR o la sangre (32). Hasta la actualidad, ambos fluidos se han utilizado para la determinación de la causa de muerte y la estimación del IPM (27, 34, 35) mediante el análisis de electrolitos como el sodio ( $\text{Na}^+$ ) o el potasio ( $\text{K}^+$ ). Cabe destacar que Swain et al. (33) declararon que el uso LCR disminuye la precisión si se compara con el uso del humor vítreo ya que tiene una correlación más baja.

#### **4.3. Electrolitos como indicadores del IPM**

Los principales electrolitos evaluados para la estimación del IPM son el potasio ( $\text{K}^+$ ), el sodio ( $\text{Na}^+$ ) y el cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), aunque se han evaluado otros como el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Se han evaluado en distintos fluidos biológicos, como el humor vítreo, líquido sinovial o líquido cefalorraquídeo, aunque la concentración de potasio en el humor vítreo ha demostrado ser el mejor parámetro para estimar el intervalo post mórtem (5).

Los niveles de electrolitos cambian tras la muerte ya que, en condiciones de hipoxia, cede la síntesis de ATP y comienza la glucólisis anaerobia. Esto provoca la inhibición de transporte activo de la membrana y la pérdida de permeabilidad selectiva a través de ella. En este momento comienza la difusión de iones y otros parámetros en función de sus gradientes de concentración. Además, las concentraciones analíticas se ven influenciadas por otros cambios post mórtem como la hemoconcentración, difusión del líquido intracelular, extracelular, etc. (1, 21).

En 1993, Coe (23) fue el primero en describir los estudios de electrolitos vítreos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), glucosa y nitrógeno ureico con el fin de determinar la causa de muerte. Sucediendo a Coe, muchos otros autores se han interesado por la química forense aportando nuevos puntos de vista, sugerencias y soluciones para mejorar la precisión del muestreo, la elección de la técnica analítica y la precisión de la medición. Entre ellos,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  son los electrolitos más utilizados para el estudio del IPM. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la deshidratación elevada o el ahogamiento pueden interferir en las concentraciones de estos indicadores y, por lo tanto, realizar una mala interpretación del IPM. Además, sin importar el tipo de indicador bioquímico, generalmente solo es aplicable al estudio del momento de la muerte en la etapa temprana, es decir, dentro de las primeras 48 horas posteriores a la muerte (36).

El potasio es el componente más utilizado en la bioquímica post mórtem. La concentración intracelular de potasio es 2-40 veces mayor a la concentración de potasio en el plasma. Es por ello por lo que después de la muerte, el potasio se desplaza a través de la membrana hacia el espacio extracelular para acercarse al equilibrio (1). Rognum et al (37) encontraron que la concentración de potasio en la sangre en un momento muy temprano tras la muerte (0 horas) era de 5,8 mmol/L, y cuando el cadáver estaba a una temperatura ambiente de 5°C, 10°C, 15°C, y 23°C, el aumento por hora de la concentración de  $\text{K}^+$  en sangre fue de 0,17, 0,20, 0,25 y 0,3 mmol/L, respectivamente. Sturner (38) afirmó que, entre la concentración de potasio en el humor vítreo y el IPM, existía una relación lineal creciente y se propuso la ecuación de la recta. Posteriormente, otros investigadores han propuesto diferentes fórmulas, entre ellas destaca la citada por Madea et al. (39) ya que mejoraron la ecuación de Stuner al contemplar en ella el error de interferencia del IPM dentro de las primeras 100 horas tras la muerte  $\pm 20$  h. Recientemente, Rognum et al. (40) propusieron que el cambio de la concentración de  $\text{K}^+$  vítreo no solo estaba positivamente correlacionada con el IPM, sino también con la temperatura ambiente y concluyeron una nueva fórmula para calcular el IPM en relación con la concentración de  $\text{K}^+$  del humor vítreo y la temperatura ambiente. El cálculo más famoso para la estimación del intervalo post mórtem es el recomendado por Sturner, donde:  $\text{IPM (horas)} = 7,14 \times [\text{K}^+] (\text{mEq/L}) - 39,1$  (41).

Algunos estudios sugieren la combinación de potasio e hipoxantina vítreos para la estimación del IPM (25, 40, 42) aunque esta propuesta ha sido cuestionada por otros

autores (43). La hipoxantina (Hx) es la primera base producida en la vía de síntesis *de novo* de las purinas (44). Se ha utilizado principalmente para la estimación del IPM prolongado ya que los procesos de degradación del ADN pueden conducir a la liberación de las purinas libres en la forma de adenina, guanina e hipoxantina (43, 44).

En el estudio de James et al. (42) se sugiere que, al combinar las dos variables (potasio vítreo e hipoxantina), la precisión de las estimaciones de los IPM mejoraría en comparación a determinaciones basadas tan sólo en potasio o tan sólo en hipoxantina. Proponiendo las siguientes ecuaciones para la determinación del IPM en base al potasio y a la hipoxantina, respectivamente:  $IPM \text{ (horas)} = 4,32 \cdot [K^+] - 18,35$ ;  $IPM \text{ (horas)} = 0,31[Hx] + 0,05$ .

Recientemente, Rognum TO et al. (40) han aplicado un análisis de regresión lineal para modelar la correlación entre la temperatura y las concentraciones de  $K^+$  y Hx. Para ello, toman el tiempo desde la muerte como variable dependiente y las concentraciones de Hx vítreas, la temperatura y el producto de ambos factores como variables independientes; realizando el mismo análisis para el  $K^+$ . Como resultados obtuvieron que las curvas de error estándar no son lineales, con el error estándar más bajo para los valores de Hx alrededor de 150  $\mu\text{mol/L}$  y los valores de  $K^+$  alrededor de 12  $\text{mmol/L}$ .

Varios estudios (1, 27, 22) han valorado la posibilidad de determinar el IPM a partir de la concentración de potasio ( $K^+$ ) en el líquido sinovial. El aumento de potasio en el líquido sinovial puede atribuirse probablemente a la autólisis de la membrana celular de la sinovia. El potasio sinovial tiene una buena correlación con el intervalo de muerte, cuya concentración es similar a la del potasio en el humor vítreo.

Se ha demostrado (21-23) que las concentraciones de  $Na^+$  en sangre comienzan a disminuir ligeramente en el periodo post mórtem inmediato, con una disminución horaria de 0,9  $\text{mmol/L}$ . Comparando las concentraciones de  $Na^+$  en el líquido cefalorraquídeo y en la sangre con las concentraciones de  $Na^+$  en el líquido vítreo, estas últimas son relativamente más estables en el período post mórtem temprano.

La concentración del ion cloruro ( $Cl^-$ ) varía de manera similar a la concentración del ion de sodio, la tasa de disminución de  $Cl^-$  en sangre fue de 0,97  $\text{mmol/L}$  por hora (22, 23).

Las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  post mórtem son más estables en la etapa temprana tras la muerte y aumentan ligeramente con el paso del tiempo. Se debe tener en cuenta que estos datos pueden variar si la causa de muerte ha sido una enfermedad cardíaca o asfixia (23, 45).

Algunos estudios (46, 47) informaron de que las concentraciones de  $\text{Mg}^{2+}$  en la sangre de cadáveres se correlacionaban con el IPM. Sin embargo, la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$  en la sangre de los individuos varía mucho en función de la edad y el sexo, lo que a su vez afecta a la precisión de estimación del IPM. Además, el contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  en el tejido muscular es mayor que en la sangre, y ciertas lesiones (por ejemplo, infarto de miocardio, lesión del músculo esquelético, etc.) también pueden provocar un aumento de las concentraciones de  $\text{Mg}^{2+}$  en la sangre (23, 45).

#### **4.4. Macromoléculas como indicadores del IPM: ácidos nucleicos y proteínas**

Recientemente se están investigando otras ramas científicas y técnicas para estimar un IPM reciente, establecer la causa de muerte y, más recientemente, relacionar proteínas con el IPM. En 2014, Li et al. (48) estudiaron la estimación del IPM a partir del RNA, en concreto 18S RNA y microRNA. En este estudio, se extrajeron tejidos cardíacos de ratas adultas a varios intervalos post mórtem y se cuantificó el ARN total mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se han conseguido 8 resultados favorables en humanos. En primer lugar, se utilizó el microRNA como una referencia endógena y, después, se llevó a cabo un PCR cuantitativa a tiempo real del 18S RNA para relacionar los Ct con el IPM.

En 2018, Procopio et al. (49) realizaron un estudio proteómico para evaluar la descomposición de las proteínas tras la muerte. En general, la mayoría de los cambios del proteoma en los huesos ocurrieron dentro de los primeros cuatro meses post mórtem. Algunas proteínas plasmáticas, incluidas la hemoglobina A y B, la transferrina y la lactoferrina, y una proteína metabólica (triosafosfato isomerasa), se descomponen rápidamente entre uno y cuatro meses de IPM, mientras que otras proteínas musculares (miosina tipo 2 y 6, beta-enolasa, creatina quinasa tipo M y haptoglobina) disminuyeron lentamente entre uno y dos meses de IPM, pero aumentaron la velocidad de descomposición entre dos y cuatro meses. Además, encontraron una correlación estadísticamente significativa entre el aumento de las desaminaciones de asparagina en la

proteína biblycan y el aumento del IPM, presentándolo como un posible nuevo método de estudio del IPM.

Prieto-Bonete et al. (50) continuaron la línea de investigación de Porcopio et al., utilizando técnicas proteómicas en muestras forenses de huesos para la estimación del IPM tardío, entre los 5 y 20 años post mórtem. Excluyendo a las proteínas circulantes, se analizaron 48 proteínas (29 estructurales y 19 funcionales). Del total, solamente 29 pudieron identificarse en el grupo de las muestras más antiguas, (más de 12 años). Mediante un análisis de correspondencia múltiple (MCA) se consiguió separar en dos grupos el conjunto de proteínas: I) proteínas relacionadas con los casos post mórtem entre 5-12 años y II) proteínas relacionadas con los casos post mórtem entre 13-20 años.

En 2021, Abd Elazeem et al. (51) establecieron que la troponina C cardíaca (cTnC) y el producto de activación del complemento C5b-9 pueden utilizarse, por separado o en combinación, como marcadores para la determinación del IPM, aunque en nivel más alto de precisión para la estimación del IPM se obtuvo al usar una combinación de ambos marcadores en el mismo análisis de regresión. Abd Elazeem et al. analizaron estos marcadores mediante técnica inmunohistoquímica en heridas de arma blanca y heridas por arma de fuego en el corazón. Los resultados del presente estudio mostraron varios cambios autolíticos en el miocardio que aparecieron levemente durante las primeras 24 horas tras la muerte en todos los grupos (control, herida por arma de fuego y herida por arma blanca) y que aumentaron con el aumento del período post mortem. Se sugiere que C5b-9 se puede usar como marcador debido a que forma parte de la cascada del complemento, activada tras una infección, y su función es detectar pequeñas áreas de necrosis. Con respecto al aumento dependiente del tiempo en la expresión de cTnC, se explica por el hecho de que la liberación de cTnC es proporcional a la extensión del daño celular irreversible. Sin embargo, Zhu et al. (52) sugirieron que las elevaciones post mortem en los niveles de cTnC pueden ser dependientes de la causa de muerte.

## **5. INCONVENIENTES DE LA BIOQUÍMICA POST MÓRTEM**

Aunque las pruebas bioquímicas post mórtem pueden ayudar en varios aspectos de la autopsia (estimación del IPM, estudio de la causa de muerte o comprender el estado de salud pre mórtem), aún existen algunas desventajas en la aplicación de estas técnicas.

### **- Falta de valores de referencia normales post mórtem**

Debido a la reciente aparición de la bioquímica post mórtem, no existen bases de datos con suficiente información ya que no se han llevado a cabo suficientes estudios sobre los valores de los indicadores bioquímicos post mórtem. Además, para conseguir estos valores de referencia se necesitan estudios de gran tamaño de muestra de población (4).

### **- Hemólisis de cadáveres después de la criopreservación**

Si los cadáveres se han conservado mediante congelación esto puede afectar a los valores bioquímicos post mórtem. La crioconservación puede dar lugar a una extensa ruptura y hemólisis de las células sanguíneas, limitando el uso de las pruebas bioquímicas post mórtem (32).

Para resolver el inconveniente de la criopreservación, se han identificado algunos biomarcadores que podrían valorarse si antes se somete la muestra hemolizada a un proceso de pretratamiento, como la dilución o la ultrafiltración. Como alternativa, también se podría estudiar los marcadores en otros fluidos, como el humor vítreo o el líquido pericárdico entre otros. Estas alternativas a la sangre son ventajosas ya que se encuentran en cavidades cerradas y se ven menos afectados por la hemólisis (53).

### **- Incongruencia en la forma de extraer el material de prueba**

Las concentraciones de ciertos analitos no son las mismas en todos los compartimentos del organismo, por ejemplo, existen diferencias si estudiamos la concentración de ciertos analitos en diferentes tipos de fluidos; e incluso también difieren los valores de las concentraciones entre la sangre del ventrículo izquierdo, ventrículo derecho y sangre periférica. Es por ello, que en la autopsia se debería recolectar muestras de tantos sitios como sea posible (6).

## 6. CONCLUSIONES

La estimación del IPM no puede proporcionarse como un dato exacto, sino que se trata de una estimación de un intervalo de tiempo. Para una correcta evaluación del IPM se deben considerar todos los cambios post mórtem observados de forma conjunta y nunca basar el resultado en un único cambio.

Tradicionalmente, la metodología para su estimación se basa en variables físicas y suelen ser métodos toscos y no repetibles. Por ejemplo, las fases naturales de descomposición (algor mortis, livor mortis y rigor mortis) pueden ser procesos recíprocos, resultando poco precisos a la hora de estimar la data de la muerte. Además, existen muchos factores intrínsecos y extrínsecos que afectan al estudio IPM.

A raíz del desarrollo tecnológico se han propuesto métodos químicos y bioquímicos para estimar el PMI, aunque sigue siendo un campo de investigación en crecimiento. Estas ciencias se basan en el estudio de los MBP en diversos fluidos biológicos corporales. Tras todos los estudios realizados sobre los MBP, queda claro que la medición del potasio en el humor vítreo se consolida como mejor método para la estimación del IPM, estando en uso actualmente como técnica complementaria. Igualmente, es necesario integrar en dicho modelo ciertas variables para obtener resultados con un estrecho margen de error, como la temperatura ambiente, temperatura rectal o el peso del cadáver.

En los últimos años se han explorado otros ámbitos de la bioquímica para encontrar un método más preciso para la estimación del IPM. Se han realizado varios estudios proteómicos con el fin de encontrar una relación entre la descomposición de ciertas proteínas y el intervalo post mórtem. También se ha relacionado el aumento de la expresión de C5b-9 y cTnC en el miocardio lesionado con el IPM.

A pesar de los numerosos métodos descritos en esta revisión bibliográfica, la estimación del IPM sigue en estudio debido a la falta de un método validado que se suponga preciso y universal. La bioquímica post mórtem se presenta como una potente disciplina para la estimación del IPM, aunque es necesaria una mayor investigación con mayor número de muestras, mayor rango de intervalos y en diversas condiciones ambientales. Además, es

necesario realizar más estudios no solo para verificar los nuevos métodos, sino también para establecer valores de referencia.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

1. Tumram NK, Ambade VN, Dongre P. Thanatochemistry: Study of synovial fluid potassium. *Alexandria J Med.* 2015;50(4):369-72.
2. Almulhim A, Menezes R. Evaluation of Postmortem Changes. *StatPearls.* 2019.
3. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, Grimstone AV. DNA Repair. En: Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, Grimstone AV. *Molecular Biology of the Cell.* 4ª Ed. Nueva York: Garland Science; 2002.
4. Palmiere C, Lesta M del M, Sabatasso S, Mangin P, Augsburger M, Sporkert F. Usefulness of postmortem biochemistry in forensic pathology: Illustrative case reports. *Leg Med.* 2012;14(1):27-35.
5. Swain R, Kumar A, Sahoo J, Lakshmy R, Gupta SK, Bhardwaj DN, et al. Estimation of post-mortem interval: A comparison between cerebrospinal fluid and vitreous humour chemistry. *J Forensic Leg Med.* 2015;36:144-8.
6. Maeda H, Ishikawa T, Michiue T. Forensic biochemistry for functional investigation of death: concept and practical application. *Leg Med.* 2011;13(2):55-67.
7. Luy Q, Ramírez M. Cuerpo y mente ante la muerte violenta. En: Malvido E, Pereira G, Tiesler V. *El cuerpo humano y su tratamiento mortuorio.* México: Centro de estudios mexicanos y centroamericanos; 1997. 67-76.
8. Poloz YO, O'Day DH. Determining time of death: temperature-dependent postmortem changes in calcineurin A, MARCKS, CaMKII, and protein phosphatase 2A in mouse. *Int J Legal Med.* 2009;123(4):305-14.
9. Aso J, Corrons J, Cobo C. El intervalo postmortal. Interés sanitario, policial, legal y forense. Barcelona: Masson; 1998.
10. Cockle DL, Bell LS. The environmental variables that impact human decomposition in terrestrially exposed contexts within Canada. *Sci Justice.* 2017;57(2):107-17.
11. Zhou C, Byard RW. Factors and processes causing accelerated decomposition in human cadavers - An overview. *J Forensic Leg Med.* 2011;18(1):6-9.
12. Goff ML. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Exp Appl Acarol.* 2009;49(1-2):21-36.

13. Swann LM, Forbes SL, Lewis SW. Analytical separations of mammalian decomposition products for forensic science: a review. *Anal Chim Acta*. 2010;682(1-2):9-22.
14. Takatori T. The mechanism of human adipocere formation. *Leg Med*. 2001;3(4):193-204.
15. Amendt J, Richards CS, Campobasso CP, Zehner R, Hall MJR. Forensic entomology: Applications and limitations. *Forensic Sci Med Pathol*. 2011;7(4):379-92.
16. Smith KGV. A manual of forensic entomology. London: The Trustees, British Museum; 1986. 1-205.
17. Magaña C. La entomología forense y su aplicación en la medicina legal. *Data de la muerte*. Aracnet. 2001;7(28):49-57.
18. Tarone AM, Kimberley C, Jennings MS, Foran DR. Aging blow fly eggs using gene expression: a feasibility study. *J Forensic Sci*. 2007;52:1350-4.
19. Maeda H, Zhu BL, Ishikawa T, Quan L, Michiue T. Significance of post mortem biochemistry in determining the cause of death. *Leg Med*. 2009;11
20. Jia YQ, Jin GD, Tian MH, Xiao Y, Xue JJ, Wang TQ, Cao ZP, Zhu BL. Effect of Corpse Cryopreservation on Forensic Pathological Identification. 2019;35(1):74-77.
21. Palmiere C, Mangin P. Postmortem chemistry update part I. *Int J Legal Med*. 2012;126(2):187-98
22. Coe JI. Postmortem chemistries on blood with particular reference to urea nitrogen, electrolytes, and bilirubin. *J Forensic Sci*. 1974;19(1):33-42.
23. Coe JI. Postmortem chemistry update. Emphasis on forensic application. *Am J Forensic Med Pathol*. 1993;14(2):91-117.
24. Meurs J, Krap T, Duijst W. Evaluation of postmortem biochemical markers: Completeness of data and assessment of implication in the field. *Sci Justice*. 2019;59(2):177-80.
25. Cordeiro C, Ordóñez-Mayán L, Lendoiro E, Febrero-Bande M, Vieira DN, Muñoz-Barús JJ. A reliable method for estimating the postmortem interval from the biochemistry of the vitreous humor, temperature and body weight. *Forensic Sci Int*. 2019;295:157-68.
26. Woydt L, Bernhard M, Kirsten H, Burkhardt R, Hammer N, Gries A, et al. Intra-individual alterations of serum markers routinely used in forensic pathology depending on increasing post-mortem interval. *Sci Rep*. 2018;8(1).

27. Madea B, Kreuser C, Banaschak S. Postmortem biochemical examination of synovial fluid — a preliminary study. *Forensic Sci Int.* 2001;118(1):29-35.
28. Montrefusco-Pereira CV, de Matos Alves Pinto L. El humor vítreo como fluido biológico de importancia clínica en ciencias forenses. *Acto bioquímica Clínica Latinoamericana.* 2016;50(1):27-35.
29. Rebellon Sánchez D, Parra Morales T, Quintero Guerrero K, Prada Morales J, Bernal Gómez B. importancia del estudio del humor vítreo para el diagnóstico de diabetes mellitid y cetoacidosis diabética post mórtem. A propósito de un caso. *Cuad Med Forense.* 2016;22(3-4):102-105.
30. Zilg B, Alkass K, Berg S, Druid H. Postmortem identification of hyperglycemia. *Forensic Sci Int.* 2009;185(1-3):89-95.
31. Osuna E, Vivero G, Conejero J, Abenza JM, Martínez P, Luna A, et al. Postmortem vitreous humor  $\beta$ -hydroxybutyrate: its utility for the postmortem interpretation of diabetes mellitus. *Forensic Sci Int.* 2005;153(2-3):189-95.
32. Palmiere C, Werner D. Post-mortem  $\beta$ -hydroxybutyrate determination in synovial fluid. *Forensic Sci Int.* 2014;241:28-30.
33. Rajanikanta S, Adarsh K, Jyotiranjana S, Lakshmy R, Gupta SK, Bhardwaj DN, Pandey RM. Estimación del intervalo post mórtem: una comparación entre el líquido cefalorraquídeo y la química del humor vítreo. *Revista de Medicina Legal y Forense.* 2015;36:144-148.
34. Alybaeva KN. Estimation of postmortem interval according to time course of potassium ion activity in cadaveric synovial fluid. *Sud. Med.* 1987;30:18-20
35. Arroyo A, Rosel P, Marron T. Líquido cefalorraquídeo: estudio bioquímico post mortem. *Revista de Medicina Forense Clínica.* 2005;12 (3):153-156.
36. Coe JI. Post mórtem chemistry of blood, cerebrospinal fluid, and vitreous humor. *Leg Med Annu.* 1977;1976:55-92.
37. Rognum TO, Hauge S, Oyasaeter S, Saugstad OD. A new biochemical method for estimation of post mórtem time. *Forensic Sci Int.* 1991;51(1):139-46.
38. Sturner WQ. The vitreous humour: post mórtem potassium changes. *Lancet.* 1963;1(7285):807-8.
39. Madea B, Henssge C, Hönig W, Gerbracht A. References for determining the time of death by potassium in vitreous humor. *Forensic Sci Int.* 1989;40(3):231-43.

40. Rognum TO, Holmen S, Musse MA, Dahlberg PS, Stray-Pedersen A, Saugstad OD, et al. Estimation of time since death by vitreous humor hypoxanthine, potassium, and ambient temperature. *Forensic Sci Int.* 2016;262:160-5.
41. Sturner WQ, Gantner Ge Jr. The postmortem interval: A study of potassium in the vitreous humour. *Am J Clin Pathol* 1964;42:137-44.
42. James RA, Hoadley PA, Sampson BG. Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour. *Am J Forensic Med Pathol.* 1997;18(2):158-62.
43. Madea B, Käferstein H, Hermann N, Sticht G. Hypoxanthine in vitreous humor and cerebrospinal fluid — a marker of postmortem interval and prolonged (vital) hypoxia? Remarks also on hypoxanthine in SIDS. *Forensic Sci Int.* 1994;65(1):19-31.
44. Elliot WH, Elliot DC. Metabolismo de Nucleótidos. En: Elliot WH, y Elliot DC. *Bioquímica y Biología Molecular.* 1ª Ed. Barcelona: Ariel; 2002. 369-384.
45. Zhu BL, Ishikawa T, Quan L, Li DR, Zhao D, Michiue T, Maeda H. Evaluation of post mortem serum calcium and magnesium levels in relation to the causes of death in forensic autopsy. *Forensic Sci Int.* 2005;155(1):18-23.
46. Mihailovic Z, Atanasijevic T, Popovic V, Milosevic MB. The role of vitreous magnesium quantification in estimating the post mortem interval. *J Forensic Sci.* 2014;59(3):775-8.
47. Tse R, Garland J, Kesha K, Morrow P, Lam L, Elstubb H, Cala AD, Palmiere C, Stables S. Postmortem vitreous magnesium in adult population. *Forensic Sci Int.* 2018;284:46-52.
48. Li WC, Ma KJ, Lv YH, Zhang P, Pan H, Zhang H, Wang HJ, Ma D, Chen L. Postmortem interval determination using 18S-rRNA and microRNA. *Sci Justice.* 2014;54(4):307-10.
49. Procopio N, Williams A, Chamberlain AT, Buckley M. Forensic proteomics for the evaluation of the post-mortem decay in bones. *J Proteomics.* 2018;15(177):21-30.
50. Prieto-Bonete G, Pérez-Cárceles MD, Maurandi-López A, Pérez-Martínez C, Luna A. Association between protein profile and postmortem interval in human bone remains. *J Proteomics.* 2019;192:54-63.
51. Abd Elazeem EA, Ismail MME, Zaghoul HS, Selim AO, Gaballah MH, Oraby EEA, Gaballah IF. Estimation of postmortem interval in myocardial stab wounds and firearm injuries: An immunohistochemical comparative study using C5b-9 and cardiac Troponin C. *Forensic Sci Int.* 2021;324:110846.

52. Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, Li DR, Zhao D, Kamikodai Y, Tsuda K, Okazaki S, Maeda H. Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 2: analysis for application in the diagnosis of sudden cardiac death with regard to pathology. *Leg Med.* 2006;8(2):94-101.
53. Mao RM, Zheng PP, Zhu CR, Zhu BL. [The analysis of pericardial fluid in forensic practice]. *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2010;26(3):202-5.