

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE  
FACULTAD DE MEDICINA



FACULTAD  
DE MEDICINA  
Universidad Nacional  
del Nordeste



*Universidad Nacional  
del Nordeste*

TESIS DOCTORAL

“Estudio de la variación de la  
concentración del potasio en el humor  
vítreo bovino durante el intervalo *post  
mortem*”

Trabajo de investigación que presenta: Pascual Pimpinella  
para la obtención del Título de  
Doctor de la Universidad Nacional del Nordeste en Medicina

Bajo la dirección de la doctora: Prof. Dra. Rosana Gerometa

Corrientes, Argentina  
(2019)



## **Dedicatoria:**

Agradezco especialmente a dos personas que marcaron significativamente mi destino de formación, por un lado el señor Decano de la Facultad de Medicina, Dr. Prof. Omar Larroza, y por otro, quien dirigió esta tesis, la Dra. Prof. Rosana Gerometa, quienes pusieron un empeño imposible de dimensionar para que pueda lograr ésta producción.

Así mismo quiero expresar mi gratitud a todos los docentes y directivos del doctorado por la excelente predisposición a transmitir los conocimientos, como así también en la preocupación permanente por resolver las dificultades.

Extiendo además mi agradecimiento a todas las personas realizaron sus aportes durante el proceso investigativo, entre ellas: Bárbara Muller y Lucia Juarez, becarias de investigación aportando todo su espíritu investigativo; Lucas Costa, bioingeniero especialista en bioestadísticas para la investigación; Alejandra Digliodo, revisora lingüística y Marina Gómez Romero por el diseño gráfico.

Finalmente un particular agradecimiento de todo corazón, a mi familia (Liliana, Luciana, Milagros y Sol) por el invaluable recurso de acompañarme en todo momento para lograr finalizar el camino transcurrido.



# Índice

• Resumen.....	9
• Abstract.....	11
• Capítulo 1:.....	13
1.1 Introducción.....	15
1.2 Objetivos del estudio.....	16
1.2.1 Objetivo General.....	16
1.2.2 Objetivos Específicos.....	16
1.3 Metodología de la Investigación.....	16
1.3.1 Tipo de Investigación.....	16
1.3.2 Material.....	16
1.3.3 Método.....	19
1.3.4 Variables Estudiadas.....	17
1.3.5 Técnicas de recolección de la información empírica, instrumentos de recolección y técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	17
1.4 Estado del Arte.....	17
1.4.1 La Muerte.....	17
1.4.2 El Intervalo <i>post mortem</i> (IPM).....	22
1.4.3 La Determinación del IPM a través del potasio en el humor vítreo.....	44
• Capítulo 2:.....	55
2.1 Resultados.....	57
2.1.1 Bioquímica vítrea y correlación con IPM.....	57
2.1.2 Resultados Estadísticos y análisis descriptivo.....	57
2.1.3 Análisis de independencia entre ojo derecho e izquierdo.....	60
2.1.4 Análisis de diferencias de concentración de potasio en el tiempo.....	61
2.1.5 Análisis de correlación entre tiempo y concentración de potasio.....	62
2.1.6 Modelos de regresión entre tiempo y concentración de potasio.....	64
• Capítulo 3:.....	67
3.1 Discusión y Conclusión.....	69
3.1.1 Utilidad del humor vítreo en la evaluación de la causa de muerte.....	69
3.1.2 Correlación entre la bioquímica vítrea con el IPM.....	69
3.1.3 Diferencias entre ojos.....	69
3.1.4 Factores que influyen en la concentración de potasio vítreo.....	72
3.1.5 Pendiente y ecuación de regresión.....	74
3.1.6 Fórmula de regresión.....	76
3.1.7 Conclusiones.....	77
• Bibliografía.....	78



## Índice de figuras y tablas

• <b>Figura 1.</b> Distribución de los datos de concentración de potasio en $t=0$ .	57
• <b>Figura 2.</b> Distribución de los datos de concentración de potasio en $t=2$ .	58
• <b>Figura 3.</b> Distribución de los datos de concentración de potasio en $t=6$ .	58
• <b>Figura 4.</b> Distribución de los datos de concentración de potasio en $t=10$ .	59
• <b>Figura 5.</b> Diagrama de cajas (boxplot) agrupadas, según ubicación de ojos (derecho-izquierdo), para la visualización del cambio de la concentración de potasio en las distintas horas de determinación.	62
• <b>Figura 6.</b> Diagrama de dispersión entre concentración de potasio y horas para ojos derechos.	63
• <b>Figura 7.</b> Diagrama de dispersión entre concentración de potasio y horas para ojos izquierdos.	63
• <b>Figura 8.</b> Representación gráfica de los modelos lineales. Diagrama de dispersión con rectas de ajuste.	65
• <b>Tabla 1.</b> Datos estadísticos descriptivos de tendencia central y dispersión para cada horario de determinación de concentración de potasio.	59
• <b>Tabla 2.</b> Comparación de estadísticos de tendencia central para cada horario de determinación de concentración de potasio según ojo analizado.	60
• <b>Tabla 3.</b> Comparación de diferencias de concentración de potasio entre horas de determinación en ojo derecho.	61
• <b>Tabla 4.</b> Comparación de diferencias de concentración de potasio entre horas de determinación en ojo izquierdo.	61
• <b>Tabla 5a.</b> Correlación lineal entre concentración y hora para ojo derecho.	62
• <b>Tabla 5b.</b> Correlación lineal entre concentración y hora para ojo izquierdo.	63
• <b>Tabla 6.</b> Coeficiente de correlación y ajuste mediante estadístico $R^2$ del modelo de regresión lineal sobre ojos izquierdos.	64
• <b>Tabla 7.</b> Coeficiente de la función lineal construida sobre los datos de ojos izquierdos.	64



## Resumen:

El estudio del intervalo *post mortem* (IPM) mediante la determinación de la concentración de potasio en el humor vítreo ha sido y es objeto de investigación en la medicina forense y de otras disciplinas interesadas en el tema. Las técnicas se desarrollan y mejoran constantemente, y se han aplicado gradualmente en la ciencia forense.

El humor vítreo tiene ventajas sobre el análisis de sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial y líquido pericárdico. Se considera que otra de las ventajas por la que los investigadores lo prefieren como elemento para determinar el intervalo *post mortem* es debido a su única ubicación anatómica. Se ha demostrado que el potasio exhibe un aumento después de ocurrida la muerte, hasta la fecha, todas las investigaciones han arrojado una variedad de relaciones lineales; es decir, diferentes pendientes estimadas de regresión.

Probablemente, esta carencia se deba en parte a la cantidad variable de casos informados de un estudio a otro, a los diferentes rangos observados de potasio y de intervalo *post mortem* y, especialmente, a que en la mayoría de los trabajos realizados tuvieron la dificultad de no contar con la hora exacta en que ocurrió la muerte, y a la que debieron arribar como conclusión a través de estimaciones en el análisis de otros indicadores o de registros realizados por otras personas ajenas a la investigación.

A los fines de contar con exactitud con el momento en que ocurrió la muerte, se han estudiado 60 humores vítreos recolectados de ojos enucleados de ganado bovino al momento del sacrificio. Las muestras vítreas se analizaron para determinar la concentración de potasio al momento de la muerte y a las dos, seis y diez horas posteriores.

De cada animal, a los tres minutos de la muerte por electrocución, se extrajo la primera muestra de humor vítreo y luego se continuó extrayendo muestras hasta completar las diez horas. Las punciones-aspiraciones fueron totalmente indoloras ya que los animales fueron sacrificados previamente. Los volúmenes de muestras fueron entre 95 $\mu$ L y 65 $\mu$ L por punción.

Las concentraciones de potasio aumentaron con el tiempo. Las concentraciones medias de potasio medidas en los dos ojos de todos los bovinos en el presente estudio variaron de 6,71 a 7,83 mEq/L con los valores del intervalo *post mortem* de 0 a 10 horas. Se encontró una correlación positiva entre la concentración de potasio y la hora de medición.

En el caso de los ojos derechos la magnitud de la correlación positiva fue de 0,478 y estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Para los ojos izquierdos, la magnitud de la correlación positiva fue más alta, con un valor de 0,655, y también estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

En virtud de la correlación positiva y significativamente obtenida, se construyó un modelo de regresión lineal para brindar una función predictora a través de una nueva fórmula de cálculo, la que fue conseguida con mejor ajuste, según los datos obtenidos, de los ojos izquierdos.

Sin embargo, la determinación de la concentración de potasio en el humor vítreo *post mortem* está limitada debido a la disparidad en los resultados de los distintos trabajos publicados y la falta de uniformidad en las ecuaciones propuestas. Por consiguiente, podemos deducir que se necesitan más investigaciones para poder superar las dificultades.

## **Abstract:**

The study of post mortem interval (IPM) by determining the concentration of potassium in the vitreous has been and is being investigated in forensic medicine and other disciplines interested in the subject. The techniques are developed and constantly improved, and have been applied gradually in forensic science.

Vitreous humor has advantages over the analysis of blood, cerebrospinal fluid, synovial fluid and pericardial fluid. It is considered that another of the advantages for which researchers prefer it as an element to determine the post mortem interval is due to its unique anatomical location. It has been shown that potassium exhibits an increase after death has occurred and, to date, all investigations have yielded a variety of linear relationships; that is, different estimated slopes of regression.

This inconsistency is probably due in part to the variable number of cases reported from one study to another, to the different observed ranges of potassium and post-mortem interval and, especially, to the fact that in most of the studies carried out they had the difficulty of not to count on the exact hour in which the death occurred, and to which they had to arrive as a conclusion through estimations in the analysis of other indicators or of records made by other people outside the investigation.

In order to have accurate account of when the death occurred with the moment in which death occurred, 60 vitreous humors collected from enucleated eyes of cattle at the time of slaughter were studied. The vitreous samples were analyzed to determine the concentration of potassium at the time of death and at two, six and ten hours later.

From each animal, three minutes after death by electrocution, the first sample of vitreous was extracted and then samples continued to be taken until the end of ten hours. The aspirations were completely painless since the animals were previously sacrificed. Sample volumes were between 95 $\mu$ L and 65 $\mu$ L per puncture.

Potassium concentrations increased over time. The mean potassium concentrations measured in the two eyes of all cattle in the present study ranged from 6.71 to 7.83 mEq / L with post-mortem values from 0 to 10 hours. A positive correlation was found between the potassium concentration and the time of measurement.

In the case of right eyes, the magnitude of the positive correlation was 0.478 and statistically significant ( $p < 0.05$ ). For the left eyes, the magnitude of the positive correlation was higher, with a value of 0.655, and also statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Given the positive and significant correlation obtained, a linear regression model was constructed to provide a predictive function through a new calculation formula, which was achieved with a better fit, according to the data obtained, of the left eyes.

However, the determination of the potassium concentration in the post mortem vitreous humor is limited due to the disparity in the results of the different published works and the lack of uniformity in the proposed equations. Therefore, we can deduce that more research is needed to overcome the difficulties.

# **CAPÍTULO 1**



## 1.1 Introducción:

El fin de la existencia de la persona humana es causa del nacimiento, modificación y extinción de derechos y obligaciones. Se trata de un «hecho» jurídicamente condicionante de la aplicación del derecho positivo, en sus diversos ámbitos. De allí la importancia de determinarlo del modo más preciso posible y según metodología científica, pues constituye uno de los objetos esenciales de la Medicina Legal.

A los fines del Derecho Penal, precisar con certeza el momento de la muerte o su data, es un imperativo de la ley procesal y puede representar el éxito o el fracaso de la investigación tendiente al esclarecimiento de un crimen cuyo resultado es la muerte de una o más personas. Por ello, empezar la pesquisa a partir de un dato erróneo respecto del tiempo de ocurrencia de la agresión letal, puede acarrear la consecuencia de inculpar al inocente y dejar impune al verdadero culpable.

Establecer la secuencia cronológica de la muerte en dichos casos, es de extraordinaria ayuda; si esa circunstancia no se aclara eficazmente, afecta la completa y fidedigna reconstrucción de los hechos. La determinación de la data de la muerte o intervalo *post mortem* (en adelante, IPM) es un eslabón relevante de la cadena de investigación *ex post*, que se realiza en el proceso penal instruido a continuación o con ocasión de una muerte violenta o sospechosa de criminalidad. En efecto, entre otras consecuencias, es el eje temporal de la atribución de responsabilidad a terceros -autoría, coautoría y participación- o su exclusión, y en su caso, fundamenta la aplicación de sanciones.

Para la Medicina no es un problema menor. Para su resolución, aplicó una serie de métodos e implementó diversidad de técnicas que evolucionaron en el transcurso del tiempo, con las finalidades de brindar resultados más precisos, disminuir el margen de error e incrementar la contribución de sus posibilidades científicas en la investigación criminal, para la mejor satisfacción de las necesidades del Derecho.

Por ello, el estudio del IPM resulta de suma importancia, y en él pueden señalarse dos caracteres principales:

- a) Es esencial en casos de crímenes asociados a muertes violentas, con o sin testigos, ya que resulta crítica para la investigación.
- b) Se trata de una de las cuestiones más espinosas y difíciles para la Medicina Forense, ya que para su correcta estimación requiere recurrir a los conocimientos de numerosas ciencias distintas a la medicina.

## 1.2 Objetivos del estudio:

### 1.2.1 Objetivo General:

- Evaluar la concentración de potasio en el humor vítreo para la estimación del intervalo *post mortem* (IPM).

### 1.2.2 Objetivos Específicos:

- Establecer las diferentes concentraciones de potasio en el humor vítreo durante el intervalo *post mortem* en ambos ojos.
- Relacionar los datos obtenidos mediante análisis bioquímico con la hora de determinación dentro del intervalo *post mortem*.
- Determinar el análisis de regresión de las variables en estudio y su forma de relación.

## 1.3 Metodología de la investigación:

### 1.3.1 Tipo de Investigación:

- El estudio es del tipo cuantitativo, observacional, prospectivo, y analítico de muestras.

### 1.3.2 Material:

- Sesenta ojos (60) de treinta bovinos (30) extraídos de animales que se destinaron al sacrificio, recibidos para faena habitual de carnes en el matadero Municipal. Los animales fueron de diferentes cruzas de razas bovinas. Criterios de inclusión. Animales mayores de dos años, de sexo femenino, certificadas como clínicamente sanas por examen veterinario previo. Se excluyeron aquellos animales con alteraciones oculares congénitas o adquiridas, con traumatismos cráneo-encefálicos y animales monoculares.

### 1.3.3 Método:

- De cada animal, inmediatamente a los tres minutos de la muerte por electrocución se extrajo la primera muestra de humor vítreo y luego se extrajo muestras a las dos, seis y diez horas *post mortem*. Las punciones-aspiraciones fueron totalmente indoloras ya que el animal fue sacrificado previamente y se realizó introduciendo una aguja 23G de 25/6 a 4 mm post limbo, ángulo externo del ojo del animal hasta alcanzar la región central del cuerpo vítreo. El Volumen de Muestra fue entre 95  $\mu$ L y 65  $\mu$ L por punción y se analizó en el mismo lugar físico de la extracción. El tiempo de medida fue de menos de 2 minutos (calibración + medida). Se utilizó un analizador de iones portátil en el sitio mismo del sacrificio. Se emplearon analizadores Clínicos Portátiles de Abbott® modelo i-STAT con cartuchos individuales de un solo uso donde se encuentran los electrodos (un cartucho por determinación) e incluye el pack de calibración en

el cartucho analítico. Los resultados se visualizaron numéricamente y por diagrama de barras con rango de normalidad.

#### 1.3.4 Variables Estudiadas:

- Variable Independiente: Tiempo (Intervalo *post mortem*).
- Variable Dependiente: Concentración de potasio en humor vítreo.

#### 1.3.5 Técnicas de recolección de la información empírica, instrumentos de recolección y técnicas de procesamiento y análisis de datos:

- La información obtenida fue procesada 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 en los resultados. Se aceptó un grado de significación estadística del 95%.

## 1.4 Estado del Arte:

### 1.4.1 La Muerte:

*«La muerte es algo de lo que nadie puede escapar. La muerte sigue a la vida con tanta seguridad como la noche sigue al día, el invierno sigue al otoño o la vejez sigue a la juventud...»* (Soka Gakkai, 2008).

A través de su evolución cultural, el ser humano ha elaborado diversidad de constructos -de variables contenidos mágicos, míticos y racionales-, acerca de la concepción de la muerte. En todos ellos, la «tanato-visión» resultante en términos generales, expresa la síntesis de un proceso de continuidad o de contraposición; esto es, la muerte entendida como estado de «distinta dimensión u otra vida» y de «no-vida», respectivamente.

La observación, primaria y real, que subyace en ambos casos, es que la muerte de un ser humano provoca una cascada de acontecimientos y reacciones que no se limitan a la interrupción de la línea vital de una persona, como se la ve desde una perspectiva biológica. Tanto es así, que genera sucesivos escalones de respuesta, ya sea en los círculos próximos al sujeto, como en otros más alejados; lo que repercute, en mayor o menor medida, sobre la sociedad en su conjunto.

La muerte, considerada como hecho social, desencadena un verdadero aluvión de cuestionamientos, dudas, o enigmas, que deben ser contestados en buena parte mediante las normas reguladoras de la dinámica social, a partir del íntegro respeto por los derechos inherentes a las personas que la establecen y desarrollan.

El hombre primitivo, de acuerdo a lo descifrado en las tablillas de arcilla con escritura cuneiforme, diferenció la muerte resultante, por un lado, de un acto violento entre los hombres, entre las fieras y el hombre o también, como consecuencia de fenómenos meteorológicos; y por otro, la muerte producida en forma natural, transferida analógicamente a dioses o demonios. Idéntico concepto tenían los pueblos primitivos de América (Oyarzo Gallardo, 2013).

En el Papiro de Ebers (siglo XVI a.C.), los egipcios afirmaban que la muerte resultaba del *«cese de la respiración a lo que le seguía la detención del corazón en el momento de la muerte, el soplo de la vida se retira con el alma, la sangre se congela, las arterias se vacían y se produce la muerte»* (Alby, 2015).

Alcmeón de Crotona (Grecia, siglo VI a.C.), en su obra *«Sobre la Naturaleza»*, señalada como el punto inicial de la literatura médica estableció la diferencia entre la vida y la muerte, diciendo que la muerte consistía en la pérdida de la armonía a la que consideraba salud, por desaparición total de la sangre, fundamentalmente en el cerebro.

Para Galeno (médico griego -Pérgamo- nacido en el año 129, que actuó y murió en Roma c. 201/216), la muerte era *«la postración total de la naturaleza y la extinción del calor natural»*. Sus teorías atravesaron, prevalentemente, la Antigüedad y la Edad Media. Recién a partir de los siglos XVI y XVII, los conocimientos acerca de la circulación sanguínea, dan inicio y se desarrollan sucesivos estudios sistemáticos y metódicos sobre la muerte, los que se extienden hasta la actualidad.

Ya configurado el saber médico-legal en términos científicos, en 1902, Lacassagne definió a la muerte como *«el cese de las funciones nerviosa, circulatoria, respiratoria y termorreguladora»*. Thoinot, en 1928, dijo: *«la vida termina con la extinción de las funciones respiratoria y circulatoria»*.

Actualmente, se define la muerte como *«el cese definitivo e irreversible de las funciones vitales, respiratoria, cardiovascular y nerviosa»*, en términos conocidos también bajo la denominación de *«trípode de Bichat»*(Oyarzo Gallardo, 2013).

La primera cuestión ante un fallecimiento es, aunque pueda parecer obvio, la comprobación de su realidad. Ello entraña problemas a los que está intentándose dar solución desde hace siglos. La primera definición clásica de los signos del fallecimiento en el ser humano, se debe a Hipócrates (500 a.C.), quien en *«De Morbis»* (2.º libro, sección 5), describe las modificaciones que se observan a nivel de la cara en el inmediato período *post mortem* y da origen a la expresión *«facies hipocrática»*.

Sin embargo, Alby (2015) expresa que entre los siglos XI-XII (Escuela de Salerno) y finales del siglo XVII, el saber médico fue progresivamente desarrollándose y consolidando su autoridad técnica sobre las cuestiones inherentes a la vida y a la muerte.

Este proceso implicó la sustitución de los conocimientos a los que se recurría desde la Edad Media; eran aplicados por monjes y frailes, se caracterizaban por su limitación a algunos contenidos que podrían denominarse técnicos, provenían de la transcripción de fragmentos textuales de la Antigüedad clásica o el relato oral transgeneracional, y evidenciaban marcada incidencia de creencias religiosas, no solo relativas a los fenómenos u hechos biológicos humanos sino, además, a la antropovisión propia de la época.

La obra de Paul Zacchia, «*Totius Ecclesiastici protomedici generalis quaestionum medicolegalium libri tres*», cabe ser destacada. Es un genuino Tratado de Medicina Legal, dedicado a las actuaciones que realiza el médico en calidad de experto y con motivo de ciertos asuntos judiciales, algunos de los cuales -control de la tortura, asuntos criminales, investigaciones de asesinato- tenían como consecuencia, el examen de los cadáveres.

Refiere a procesos civiles y criminales a través de los cuales se resolvían controversias relacionadas al proceso de generación de la vida, el nacimiento y el aborto; los casos de esterilidad y de impotencia; las condiciones de la fecundidad; investigaciones de la paternidad o filiación (a partir del estudio de semejanzas o «*de similitudine et dissimilitudine*»); informes técnicos sexuales; distinción entre curaciones naturales y milagros; control de la tortura inquisitorial; diagnóstico de simulaciones de enfermedad que permitieran evadirla; control de la salud pública; diagnóstico de epidemias y medidas profilácticas aconsejables para afrontarlas (Ariès, 1984).

Sin embargo, Ariès (1984) destinó un capítulo especial al tratamiento del cadáver; no sólo con el objeto de una mejor instrucción de los casos de muerte violenta por parte de los tribunales, sino también porque consideraba que el cadáver contiene los secretos de la vida y de la salud.

En ésta misma época se inicia el desarrollo de la farmacopea a partir de la muerte, fundada en la idea dominante según la cual, los cadáveres proporcionaban la materia prima del remedio. Así, el sudor de los muertos se consideraba eficaz para el tratamiento de hemorroides; el contacto de la mano del cadáver, por fricción sobre la región enferma, resultaba ser un medio curativo y por ello, los anatomistas de la época se caracterizaban por tener sus manos en buen estado.

En la misma línea de fundamentación, una serie de remedios estaban destinados a curar los males de un miembro enfermo, mediante el correspondiente cadavérico (el brazo con el brazo, la pierna con la pierna); el cráneo reseco se indicaba para aliviar al epiléptico (los huesos eran absorbidos en forma de decocciones de su polvo); el *priapus* del ciervo se aplicaba con buenos resultados a los histéricos y se les reconocía poder *ad Venerem promovendum* atribuyendo, una relación entre la histeria y los delirios amorosos.

La causa justificativa del elenco terapéutico referenciado, radicaba en la aplicación al cadáver, de un principio general de simpatía-antipatía concordante con el residuo de vida que conservaban los cuerpos muertos.

Asimismo, también se pensaba que los huesos tenían poder profiláctico; se recomendaba llevarlos colgados al cuello o cosidos en los vestidos, no como un *memento mori*, sino por sus virtudes intrínsecas; esto es, la resignificación (con valor técnico) del objeto de memoria presente, en amuleto preventivo-defensivo (profilaxis) y por ello, se consideraba que los soldados que portaban el dedo de un soldado muerto, se encontraban bien de salud (Ariès, 1984).

De todos modos, la lista de las propiedades benéficas atribuidas por entonces a los cadáveres, era extensa e incluía a los brebajes afrodisíacos; se elaboraban a partir de huesos calcinados pertenecientes a cónyuges felices o amantes fallecidos.

Por contigüidad, la vestimenta de los muertos o un fragmento de ellas, se tenía por curativa de dolencias tales como cefaleas y *aniprocidentia* (hemorroides), al menos en la comunidad belga.

De manera interesante Ariès (1984) destaca que en 1670, Christian Friedrich Garmann publica «*De Miraculis Mortuorum*» (Leipzig), obra en la que preconiza la utilidad del *Agua Divina*, así denominada en razón de sus maravillosas virtudes.

Según la traducción Thomas Bartholin y Jérôme Hirnhaim, debía elaborarse con el cadáver entero (*totum cadáver*) de un hombre que, en buen estado de salud falleciera de muerte violenta; luego de cortarse en pequeños trozos la carne, huesos y vísceras, se mezclaba todo para lograr homogeneidad y después se reducía a líquido en un alambique. Esta «agua», entre muchos otros efectos médicos, permitía evaluar con certeza la esperanza de vida de un enfermo gravemente herido: sobre una cierta cantidad de agua, se derramaban de tres a nueve gotas de sangre del enfermo y se agitaba suavemente al fuego; si el agua y la sangre se mezclaban bien, era señal de vida; si quedaban separadas, era señal de muerte (a falta de sangre, se podía utilizar la orina, el sudor u otras secreciones).

Los remedios de origen cadavérico eran, particularmente, buscados y utilizados por pacientes ilustres, ya que resultaban costosos y de difícil preparación; así, valga la cita del tratamiento aplicado a Carlos II de Inglaterra durante su última enfermedad, consistente en beber cuarenta y tres gotas de una poción elaborada con extractos de cráneo humano.

No obstante, el autor de tan notable trabajo de revisión, referido a la muerte, destaca que halló documentos en los que se han descrito casos en los que, contrariamente, el uso médico del cadáver podía tener efectos nocivos (v.gr. la ingesta de mezcla de huesos en cerveza, pues provocaba crueldad o la detención de la regla menstrual provocada por el contacto de la mujer con el cadáver), sin embargo, eran mucho más numerosos sus efectos útiles. Unos y otros eran considerados como naturales, con escaso o nulo contenido mágico.

La utilización *ad benefîcia magia* era excepcional, tal como ocurría con el empleo de la mano derecha de los niños nacidos antes de tiempo o abortados o no bautizados; o un pergamino realizado con su piel o la creencia de que una candela de sebo humano, permitía encontrar tesoros ocultos (Ariès, 1984).

La vida y la muerte constituyen una unidad lógica que da sentido a la existencia humana; plantea inquietudes variables, según los valores vigentes en el tiempo y el espacio considerados; que se erigen en desafíos para el saber médico contemporáneo y han motivado diversidad de respuestas sucesivas.

En nuestros días, circunstancias como la necesidad de contar con órganos para trasplante y el alto costo de los sistemas de mantenimiento y soporte vital que brindan las modernas unidades de cuidados intensivos, demandan la adopción de criterios sólidos y uniformes que permitan el diagnóstico precoz del punto de compromiso funcional que implica irreversibilidad vital.

La muerte no es un fenómeno instantáneo, por el contrario, lejos de lo que aparenta y de lo que creen las personas legas en materia médica, se desarrolla como un proceso gradual. Esta afirmación, de certeza científica, obliga a distinguir entre diferentes conceptos de muerte, a saber: a) muerte biológica; b) muerte clínica; y c) muerte legal.

En tal sentido, puede señalarse:

a) Desde la perspectiva estrictamente biológica, está verificado que algunas células del organismo, tales como las de la piel, el cabello o las uñas, pueden continuar viviendo y reproduciéndose durante minutos, horas e, inclusive, días después de haberse producido el cese de las funciones cardíaca y respiratoria.

b) Una vez extinguida la actividad cardiorrespiratoria, transcurre un período crítico de 3 a 5 minutos, durante el cual se produce la abolición de la dinámica cerebral, a menos que se aporten oxígeno vicariante al cerebro. Es en dicho período crítico que corresponde el diagnóstico de muerte clínica.

c) Acorde a la legislación vigente, la muerte legal es un concepto que se refiere al cese de las funciones cerebrales o circulatorias -disyuntivamente-, que habilita para la ablación de los órganos con fines de trasplante.

La muerte y el cadáver humano, en sí mismos considerados, son objeto de estudio científico independientes de las causas del óbito. En efecto, se estudia la muerte como proceso del ciclo vital, antes de conocerse sus causas y no solo con la finalidad de determinarlas. Asimismo, se explora el cadáver tal como se examina a una persona enferma, es decir, en su cama.

Así, conceptualmente, la muerte no es separable de la enfermedad, de la que constituye uno de sus dos estados evolutivos posibles (el otro, es la curación). Además, en nuestros días se estudia la

muerte para los casos especialísimos de los que se ocupa la Medicina Legal, consistentes en los supuestos de muerte violenta o sospechosa de criminalidad.

#### 1.4.2. El Intervalo *Post Mortem* (IPM)

La muerte, que desde la perspectiva biológica consiste en un proceso, lleva implícita la cuestión de determinar estimativamente, el momento de su ocurrencia.

Dicha cuestión se resuelve mediante una operación técnica que intenta establecerlo, con la mayor precisión posible, a partir del inicio del examen cadavérico y por ello se denomina intervalo *post mortem* (IPM). Su estudio corresponde a un área de la Medicina Legal, habitualmente designada como tanatología, dedicada al conocimiento e investigación de las modificaciones que experimenta el organismo humano a partir de la muerte, las que reconocen una evolución cuyo inicio se remonta a los albores de la Medicina.

El arte médico, desde sus orígenes hasta la proyección del Cristianismo sobre la cultura medieval, estuvo jalonado por dos figuras prototípicas: Hipócrates y Galeno. Puede afirmarse con total certeza que la medicina en el período grecorromano encontró en estos dos personajes, sus más conspicuos representantes.

El primero de ellos, «inventor de todo bien» como lo llamó el segundo, inspiró de tal manera al médico de Pérgamo, que llegó a afirmar que el propósito de su vida era recuperar la tradición hipocrática. Este es uno de los tantos aspectos que permiten explicar la enorme autoridad que su nombre impuso en la historia subsiguiente de la medicina, no solamente en la época tardo antigua y medieval, sino también en la Europa pos medieval.

En su obra más importante, «*Procedimientos anatómicos*» Galeno hace un gesto casi ritual para probar que la ciencia es hipocrática, y con gran habilidad lleva a sus enemigos a posturas decididamente anti hipocráticas, con el objeto de desacreditarlos.

Se arrogaba el derecho de ser el único y legítimo heredero de Hipócrates; no obstante, gran parte de la fama que ganó radica en su absoluta originalidad, especialmente en lo tocante a cuestiones anatómicas. En este aspecto superó a su maestro, ya que la anatomía no se había desarrollado en tiempos de Hipócrates, pero de él aprendió la manera de proyectar la imagen del médico-filósofo, capaz de elaborar una síntesis genial de especulación teórica y datos empíricos.

No solo los médicos occidentales llegaron a venerarlo, también en el mundo árabe el nombre de Galeno inspiró el mayor respeto a punto tal que hasta Avicena, el genio médico, sucumbió a su influencia.

Cabe tener presente que la figura de su antecesor, Hipócrates, no pasó desapercibida a los dos gigantes de la antigua filosofía. Platón consideraba que lo que fue Fidias al arte de la escultura, lo fue Hipócrates al «arte médica».

Aristóteles, reticente a nombrarlo, utilizó muchos conceptos fisiológicos detallados en el «*Corpus Hippocraticum*», pero en su obra «*Sobre la generación de los animales*» se refirió a los inspiradores de una manera elusiva, llamándolos lacónicamente «ciertos fisiólogos» (*boúlontai légein tines tón physikón*).

También los estoicos tomaron de Hipócrates, algunas doctrinas médicas. Así, en la teoría del *tónos* sostuvieron la hipótesis de que la dinámica universal del Logos da consistencia a todos y cada uno de los seres por su acción inteligente y no por una proporción adecuada de los elementos.

Esta teoría fue el eje de la física sustentada en el Pórtico del ágora ateniense. En la terminología estoica, la palabra *tónos* y sus derivados, *atonía* y *eutonía*, tienen un sentido óptico y psicofísico, pero ya Hipócrates había empleado la palabra en un contexto cognoscitivo. Galeno afirma que estas fuerzas se llaman así cuando se las considera partes del alma.

La lógica estoica fue conocida y utilizada por Galeno, sumándola al método de demostración peripatética para articular su saber médico, facilitado por su buena formación filosófica y matemática. Asimismo, se interesó por la lógica y la biología de Aristóteles, con quien se diferenció en torno al problema del número de ventrículos del corazón, seis siglos después de su existencia.

La actividad científica de Galeno decayó tras la muerte de Marco Aurelio, en medio de las agitaciones políticas que caracterizaron el gobierno de Cómodo. No obstante, fue en ese período cuando escribió los libros VI al XI de sus «*Procedimientos anatómicos*»; la redacción de los libros XI al XV es posterior al año 192, en el que más de la mitad de sus obras desaparecieron para siempre al incendiarse el Templo de la Paz, donde se conservaban.

La escuela médica de Alejandría también influyó decisivamente en la medicina que se conocía en los inicios del cristianismo. Sus médicos habían estudiado los textos hipocráticos con las técnicas filológicas propias del Museo, a pesar de las diferencias notables que se pueden detectar entre los alejandrinos y los *Asclepiades* de Cos, pues mientras estos últimos formaban un gremio hereditario, aquellos manifestaban un carácter predominante académico y teórico Alby (2015).

La persecución de los intelectuales desatada por Ptolomeo VII en el siglo II a.C., provocó el decaimiento de la escuela alejandrina pero volvió a florecer en tiempos de la época imperial, en torno al nacimiento y vida de Galeno. Uno de los factores sobresalientes de este renacimiento fue la fijación de las bases del pensamiento anatómico realizada por Marino -pionero de este saber- y comunicada a sus discípulos Numisiano y Quinto, quienes colaboraron, a su vez, en la formación de maestros directos de Galeno, como Sátiro y Pélope.

Alby (2015) refiere que antes de ellos, en la época helenística, la investigación anatómica estaba confinada a uno de los dos grupos en que, de manera muy general, podían dividirse los médicos. Para entonces, se diferenciaban *dogmáticos*, por un lado y, por el otro, *empíricos*. Los primeros, sostenían que la enfermedad obedecía a causas ocultas que ellos no estaban en condiciones de conocer y que se referían, especialmente, a la constitución humana.

La experiencia debía ser coronada por deducción y razonamiento. Los segundos, afirmaban que la especulación sobre esos asuntos no era necesaria, que la deducción resultaba improcedente porque debía priorizarse el examen individual de cada paciente y que la atención a sus síntomas específicos era la única guía confiable.

La anatomía se refugiaba en este segundo grupo, pero no puede dejar de reconocerse que recibió de la tradición hipocrática, la exactitud de su legado en cuanto al conocimiento de los órganos de los sentidos –en especial el ojo- y de los vasos sanguíneos.

De la misma manera, las comparaciones realizadas por Aristóteles, entre el organismo humano y el de los animales, resultaron muy importantes para que el legado hipocrático alcanzara ese grado de precisión.

La práctica de disecciones humanas para hacer avanzar el conocimiento anatómico, llegaría más tarde. Entre los primeros que ensayaron la autopsia de cadáveres y la vivisección de criminales condenados a muerte, se cuenta a Herófilo de Calcedonia (270 a.C.) y a Erasístrato de Ceos (260 a.C.).

Si bien la intuición genial de Platón ya había adelantado que el cerebro es el centro del sistema nervioso, fueron las vivisecciones que hizo Herófilo, las encargadas de confirmarlo (Alby, 2015).

En 1286 se registra la primera autopsia documentada, llevada a cabo en Italia, en el curso de una plaga y, posteriormente, también hay constancia de otras que se llevaron a cabo en búsqueda de conocimientos anatómicos. Un siglo después, en la escuela médica de Bolonia, se inicia la práctica de autopsias por causas legales (antes que disecciones) a requerimiento de la Escuela de Derecho de la que también dependían, con el objeto de colaborar en el esclarecimiento de muertes en casos muy difíciles.

Más tarde, hacia 1360, se realizaron autopsias en otros lugares de Europa, sobre cadáveres de criminales ejecutados, pese a las objeciones religiosas predominantes.

Recién a partir de 1507, la autopsia comenzó a ser considerada una práctica médica eficaz para determinar la causa de algunas muertes o la evolución de enfermedades. Esta convicción fue el punto de inflexión que inició el desarrollo científico de conocimientos y prácticas específicas cuya evolución llega a nuestros días.

En América, la primera autopsia la efectuó Juan de Correa -cirujano del Santo Oficio de México- el 8 de octubre de 1646, con el fin de investigar y estudiar enfermedades (Espert, 2004).

Otras fuentes, anteponen la autopsia practicada por el cirujano Juan Camacho en la isla La Española, el 18 de julio de 1533, en el cuerpo de dos siamesas unidas por el ombligo y fallecidas a los ocho días de vida, con el objeto de que la Iglesia pudiera determinar si había una o dos almas (J. Lorenzo de la Garza-Villaseñor y Juan Pablo Pantoja-Millán, 2008).

Después de más de dos siglos, a finales de 1800, comenzaron a identificarse los fenómenos de transformación cadavérica y su evolución; con ello, la autopsia comenzó a valorarse como el procedimiento idóneo a partir de cuyos hallazgos se puede estimar la hora de la muerte. No obstante, todavía no se sabía, a ciencia cierta, la causa de esos cambios y ello daba lugar a errores de variada índole.

Lo que en aquel entonces se interpretaba, a veces, como una mueca de horror o de pánico, era en verdad el resultado del cambio físico o del daño causado por un arma, una sustancia cáustica, un animal o un insecto; se desconocía que los cambios de coloración podían estar causados por el sofocamiento de la víctima, los fenómenos de lividez o el comienzo de la descomposición. Muchos médicos veían y observaban, pero aún no comprendían plenamente lo que ocurría en los cadáveres.

Alexander Lacassagne (Francia, 1843-1924), realizó en Lyon varios estudios que determinaron un verdadero avance en el campo de la tanatología; concretamente, en la comprensión de los fenómenos que tienen lugar en un cadáver inmediatamente después de su muerte.

Así, tomó apuntes sobre el *rigor mortis* y su evolución cronológica; el *algor mortis*, donde observó el descenso de la temperatura hasta igualarse con la del entorno; el *livor mortis* y la palidez cadavérica. Advirtió que estos fenómenos eran útiles para determinar el IPM y también de las variaciones que podían experimentarse, según sus factores modificantes.

El citado maestro francés motivó una genuina fascinación por la práctica forense y varios profesionales aportaron mejoras y nuevos métodos; en otros, Carl von Rokitanski (1804-1878) que desde Viena enseñó a sus alumnos un método *post mortem* consistente en el descubrimiento de los órganos internos y su investigación.

Anton Gohn (Austria, 1866-1936) fue un paso más allá e introdujo la técnica de extracción de órganos según su función, de uso aún en la actualidad en algunas escuelas de medicina. Rudolf Virchow (Alemania, 1821-1902) en Berlín, preconizaba su propio método consistente en extraer y examinar los órganos por separado; esta técnica es la más utilizada hoy en día. Es un procedimiento más delicado, mediante el cual es menos probable que se pierdan fragmentos minúsculos de evidencia médica.

Es función primordial de médico forense, como el anatomopatólogo forense, ayudar al esclarecimiento de los hechos en la investigación criminal a través de la determinación del IPM y causa de la muerte; la información es registrada en un documento escrito, que habitualmente se designa como «protocolo» de autopsia.

La determinación del IPM constituye uno de las cuestiones más complejas que afronta el médico forense; fijar con exactitud el momento en que se ha producido una muerte equivale, en la mayor parte de las ocasiones, a permitir que se identifique al verdadero autor criminal y librar de una falsa acusación al inocente, lo cual es un desafío para la experiencia y formación académica del experto.

La evaluación del IPM se fundamenta en los fenómenos cadavéricos, consistentes en cambios morfológicos que ocurren con el transcurso del tiempo, causados por la muerte.

El estudio de estos fenómenos cadavéricos constituye una unidad conceptual y temática que se denomina «cronotanatodiagnóstico», integrante de la tanatología forense. El análisis de los fenómenos cadavéricos, iniciales y tardíos respecto de la muerte, se lleva a cabo mediante los métodos específicos para cada uno de ellos, que luego se interpretan de modo integrado; son implementados rutinariamente por los expertos y sus resultados finales permiten establecer el IPM.

Los fenómenos cadavéricos pueden ser modificados por condiciones del medio ambiente (temperatura, humedad, suelo) o por aquellas propias del cadáver (enfermedades previas, intoxicaciones, sepsis, hemorragia), las cuales pueden acelerar o retardar el curso evolutivo de dichos procesos. Es por ello, que el IPM se establece en términos de aproximación, estimativamente, y se expresa en un rango temporal.

A tales fines, la medicina forense así como todas las demás disciplinas médicas, se vio muy favorecida a partir de 1900 con el aporte de invenciones tecnológicas tales como el microscopio electrónico, los rayos X o la resonancia magnética; sin embargo, hasta el momento no hay ninguna técnica que, por sí sola, permita la resolución satisfactoria del problema.

Todos los datos son útiles y deben recogerse, porque será la congruencia del conjunto de ellos la que permitirá arribar a una conclusión fundada, aunque siempre aproximada, con un margen de error variable, tanto mayor cuanto más tiempo haya transcurrido entre el tiempo de realización de la estimación y el momento de la muerte.

La complejidad y dificultades que plantea la determinación del IPM al médico legista, son categóricas; basta mencionar que para autores clásicos como Orfila, Thoinot y Corin, la solución a este problema bien puede considerarse una empresa superior a las fuerzas del hombre.

Por lo tanto, establecer el IPM con la máxima precisión posible, tiene una gran trascendencia. La data reviste valor y aplicación en un doble sentido: absoluto, para precisar cuándo falleció una persona y relativo, para reconstruir la secuencia del deceso de dos o más personas ocurridos simultáneamente o en tiempos muy próximos.

El resultado del IPM puede ser estimado y expresado en términos de horas, días, semanas, meses o años transcurridos desde el fallecimiento de una persona hasta el momento de su hallazgo, según diversidad de circunstancias propias de cada caso.

En este cálculo de tiempo, intervienen diferentes disciplinas científicas cuyos conocimientos y técnicas se aplican a la interpretación de evidencias físicas encontradas sobre, alrededor y en el interior del cadáver.

Ni el hallazgo de restos óseos ni su antigüedad, son impedimentos para la determinación del IPM ya que, producida la esqueletización de un cuerpo, este puede perdurar casi intacto durante varios millares de años. Así lo evidencian los restos óseos localizados en los abrigos rocosos del Tequendama (Soacha, Cundinamarca), cuya datación oscila en cifras de años AP; o el de «Lucy», nombre que el Dr. Donald Johanson le asignó en 1974, al esqueleto «muy bien preservado y correspondiente a una hembra de homínido, que vivió en el actual territorio de Etiopía hace 3,2 millones de años».

Las citas ejemplificativas del párrafo anterior señalan que, para la determinación del IPM, puede necesitarse el auxilio de diferentes disciplinas científicas, tales como la tafonomía, la entomología, la arqueología, la antropología, la paleontología, la edafología y la biología.

Es aconsejable, en la medida de lo posible, apoyar el dictamen final del IPM con los resultados analíticos de todas las evidencias físicas disponibles pues, en caso contrario, se corre el riesgo de sesgar los resultados y con ello afectar en detrimento la investigación judicial.

La entomología y la tafonomía forense, se constituyen en las disciplinas que pueden aportar un mayor número de elementos de juicio técnico para la interpretación del IPM en casos de cadáveres no recientes.

En ellos, es mucho más complejo establecer el tiempo transcurrido desde la muerte, debido a los cambios físicos causados por la putrefacción, más aún cuando alcanzó el estadio de completa esqueletización; no obstante, deben optimizarse los recursos pues la estimación del IPM permite orientar diferentes aspectos de la investigación, tales como apoyar la identificación de víctimas clasificadas como NN, confirmar o descartar el testimonio de una persona sindicada de haber cometido un crimen, entre otras, independientemente del tiempo transcurrido desde la muerte.

Muchos cambios físico-químicos comienzan inmediatamente después de la muerte y progresan en una forma bastante ordenada hasta la desintegración del cuerpo.

Todas las transformaciones *post mortem* se producen en el cadáver, por su condición de organismo inerte y en consecuencia, el desarrollo del proceso de degradación biológica. Dichos cambios son causa de una serie de signos, algunos tempranos y otros tardíos, en relación a la muerte, tales como

los que se han mencionado anteriormente. Dada la notable abundancia de signos propuestos para el IPM, es preciso sistematizarlos y sobre todo, enjuiciarlos en su verdadero valor.

En principio, cabe dividirlos en dos grandes grupos: el primero incluye los signos que se evidencian en los cadáveres recientes, entendiendo por tales, aquellos en los que aún no se ha iniciado la etapa de putrefacción; al segundo grupo, pertenecen los signos que se observan en cadáveres antiguos, en los cuales se encuentra en curso evolutivo la etapa de putrefacción pero aún no llegaron al período esquelético.

Dentro de los fenómenos cadavéricos recientes, tempranos o consecutivos, Juan Antonio Gisbert Calabuig (España, 1922-2000) diferenció entre los que denominó abióticos y bióticos. Los primeros, son el resultado de la desaparición de todo género de vida y no obedecen más que a las leyes físicas que gobiernan los cuerpos inertes; comprenden a la deshidratación, livideces y enfriamiento.

Los segundos, es decir, los fenómenos cadavéricos bióticos, son de diferentes formas de expresión que de los de naturaleza fisicoquímica, que se producen en el cuerpo después de la muerte; entre otros, la rigidez cadavérica debida a la degradación del ATP a AMP (Gisbert Calabuig, 1998).

Los métodos rutinarios para el análisis de los fenómenos cadavéricos iniciales, tomando en consideración todos los factores que pueden acelerarlos o retardarlos, permiten arribar a resultados que remiten a un amplio rango de tiempo, variable entre seis y ocho horas o más del deceso. Esta circunstancia incide significativamente en el avance de los procesos de investigación judicial e, inclusive, puede impedir o acarrear error en la atribución de autoría sobre el hecho.

Cada uno de estos cambios se encuentra fuertemente influido por factores endógenos y exógenos o ambientales, que son impredecibles. En consecuencia, cuanto mayor es el intervalo, más amplia debe ser la estimación del momento de la muerte; en otras palabras, cuanto mayor es el tiempo transcurrido desde la muerte, menos preciso será el cálculo.

Las evidencias utilizadas para la determinación del intervalo *post mortem*, se las puede dividir en tres categorías que se utilizan en forma concurrente.

La Evidencia Cadavérica, basada en los cambios que presenta el cuerpo tanto en el período inmediato como mediato del intervalo *post mortem*, es decir, antes de la aparición de las manifestaciones de la putrefacción.

La Evidencia Ambiental, relacionada con las características del medio ambiente donde fue encontrado el cuerpo, temperatura, humedad, ropas que vestía el occiso, luz solar directa, aireación, fuente de calor cercana al cadáver, etc.

La Evidencia Anamnésica, basada en los datos obtenidos mediante el interrogatorio referente, entre otros, a los hábitos del occiso, sus actividades diarias, trabajo y horarios (Vázquez Fanego, 2003).

En la determinación del intervalo *post mortem*, en el cadáver reciente son útiles las reacciones supra vitales, los fenómenos cadavéricos tempranos y algunos criterios bioquímicos.

Se llaman supra vitales porque corresponden a la capacidad de respuesta que el organismo conserva más allá de la vida, ante estímulos eléctricos, químicos o mecánicos.

La excitabilidad muscular *post mortem*, consiste principalmente en la excitabilidad por corriente farádica, propuesta por Prokop. Se emplean dos agujas de inyección conectadas a una batería de bolsillo. Las agujas se insertan en los ángulos externos de los ojos y de los labios. Una reacción positiva puede ser fuerte, mediana y débil. Es fuerte cuando hay una contracción facial generalizada. Es mediana cuando la reacción está confinada a las partes blandas circundantes, y débil cuando la reacción se limita a una contracción fibrilar.

Los resultados promedio referidos al IPM son los siguientes: a los 45 minutos, contracción facial generalizada; a los 75 minutos, fuerte contracción de los párpados con mediana excitación de los labios; a los 105 minutos, mediana excitación de párpados y débil excitación de labios; a los 135 minutos, débil al excitar los párpados y ninguna respuesta cuando se trata de excitar los labios.

Otro de los signos buscados para el intervalo *post mortem*, son las reacciones pupilares y los cambios retinianos.

Las reacciones pupilares consisten en la contracción (miosis) o dilatación (midriasis) de la pupila cuando se inyecta en el ojo sustancias como la pilocarpina y la homatropina. Entre 8 y 17 horas puede haber midriasis; entre 14 y 20 horas miosis, y entre 3 y 11 horas la doble reacción.

Los cambios retinianos requieren la observación mediante oftalmoscopio, después de humedecer la córnea con unas pocas gotas de agua o solución salina.

Uno de estos cambios es la fragmentación de las columnas de eritrocitos en los vasos de la retina, que se produce entre 5 y 120 minutos. Otro es la descoloración del disco, que empieza a los cinco minutos y se completa entre 7 y 10 horas. Finalmente después de las 15 horas la retina se vuelve gris o de tono amarillo grisáceo uniforme, con desaparición de los vasos sanguíneos y exposición de la mácula.

Los fenómenos cadavéricos utilizados con mayor frecuencia para la determinación del IPM en cadáveres recientes y que son de gran utilidad en la práctica médico forense son: el enfriamiento, las livideces y la rigidez cadavérica.

La medición científica del enfriamiento del cadáver se inició en el siglo XIX. Los primeros trabajos en este sentido fueron realizados por el doctor John Davey, en 1839 en soldados muertos en Malta y Bretaña. Alfres Swaine Taylor, autor de la obra clásica de medicina legal inglesa, dio a conocer

La determinación del IPM constituye uno de las cuestiones más complejas que afronta el médico forense; fijar con exactitud el momento en que se ha producido una muerte equivale, en la mayor parte de las ocasiones, a permitir que se identifique al verdadero autor criminal y librar de una falsa acusación al inocente, lo cual es un desafío para la experiencia y formación académica del experto.

La evaluación del IPM se fundamenta en los fenómenos cadavéricos, consistentes en cambios morfológicos que ocurren con el transcurso del tiempo, causados por la muerte.

El estudio de estos fenómenos cadavéricos constituye una unidad conceptual y temática que se denomina «cronotanatodiagnóstico», integrante de la tanatología forense. El análisis de los fenómenos cadavéricos, iniciales y tardíos respecto de la muerte, se lleva a cabo mediante los métodos específicos para cada uno de ellos, que luego se interpretan de modo integrado; son implementados rutinariamente por los expertos y sus resultados finales permiten establecer el IPM.

Los fenómenos cadavéricos pueden ser modificados por condiciones del medio ambiente (temperatura, humedad, suelo) o por aquellas propias del cadáver (enfermedades previas, intoxicaciones, sepsis, hemorragia), las cuales pueden acelerar o retardar el curso evolutivo de dichos procesos. Es por ello, que el IPM se establece en términos de aproximación, estimativamente, y se expresa en un rango temporal.

A tales fines, la medicina forense así como todas las demás disciplinas médicas, se vio muy favorecida a partir de 1900 con el aporte de invenciones tecnológicas tales como el microscopio electrónico, los rayos X o la resonancia magnética; sin embargo, hasta el momento no hay ninguna técnica que, por sí sola, permita la resolución satisfactoria del problema.

Todos los datos son útiles y deben recogerse, porque será la congruencia del conjunto de ellos la que permitirá arribar a una conclusión fundada, aunque siempre aproximada, con un margen de error variable, tanto mayor cuanto más tiempo haya transcurrido entre el tiempo de realización de la estimación y el momento de la muerte.

La complejidad y dificultades que plantea la determinación del IPM al médico legista, son categóricas; basta mencionar que para autores clásicos como Orfila, Thoinot y Corin, la solución a este problema bien puede considerarse una empresa superior a las fuerzas del hombre.

Por lo tanto, establecer el IPM con la máxima precisión posible, tiene una gran trascendencia. La data reviste valor y aplicación en un doble sentido: absoluto, para precisar cuándo falleció una persona y relativo, para reconstruir la secuencia del deceso de dos o más personas ocurridos simultáneamente o en tiempos muy próximos.

Numerosas variables interfieren en su utilidad práctica, como por ejemplo, la temperatura corporal inicial, las dimensiones del cadáver, la posición del cuerpo, las ropas y otros medios de aislamiento, etc.

Se aprecia que hay muchas variables, las cuales se llegan a alterar durante el período *post mortem*, como el viento y la temperatura que hacen imposible calcular el tiempo de la muerte con exactitud.

Cuando cesa la circulación, el plasma y los glóbulos rojos de la sangre son influenciados por la gravedad y buscan los niveles más bajos dentro del sistema vascular. La capilaridad relajada y el lecho venoso permiten el movimiento pasivo de ambos componentes sanguíneos. El plasma tiende a causar edema de las áreas inferiores y si no se mueve el cuerpo durante largo tiempo, esto contribuirá a la producción de ampollas subcutáneas de putrefacción temprana. Sin embargo, los glóbulos rojos son los que muestran los cambios gravitacionales más notables, mientras se asientan en las áreas más bajas para formar una zona rosada o azulosa de *hipostasia post mortem*, lo que se suele llamar «lividez» o «sugilación». Como la mayoría de los cuerpos muertos se dejan en posición supina, la hipostasia se forma en la espalda, las nalgas, músculos, pantorrillas y en la parte de atrás del cuello.

Donde el cuerpo se encuentra en contacto con una superficie de apoyo dura, la presión comprime el lecho vascular, por lo que las áreas pálidas se pueden ver en las nalgas y en hombros.

En las primeras etapas pueden aparecer zonas moteadas de hipostasia, aún en las superficies del cuerpo, especialmente en las piernas. Esto se debe a la dilatación poco común del lecho vascular, pero estas zonas rápidamente se deslizan hacia abajo, a las partes inferiores.

El color de las livideces es variable; generalmente es de color rosado oscuro, pero puede ser púrpura intenso o azul, cuando hay hipoxia congestiva, aunque esto rara vez tiene algún significado diagnóstico. Mucho más importante es el color rojo cereza, que denota envenenamiento por monóxido de carbono o un rojo intenso o similar al color ladrillo, que algunas veces se ve en el envenenamiento por cianuro.

Una lividez de color café se puede ver en las metahemoglobinemia de varios estadios tóxicos, y ocasionalmente puede ser aparente un color bronceado en septicemias por *Clostridium perfringens*, por lo general acompañadas de aborto séptico.

Se puede observar un color rosa brillante en la hipotermia, debido a la falta de disociación de la oxihemoglobina. Esto puede ser más notable en las articulaciones más grandes, así como en las áreas colgantes. Los cuerpos que se recogieron de aguas frías pueden mostrar el mismo color rosado, pero cualquier cuerpo almacenado en un refrigerador para cadáveres también puede ser del mismo color, aunque antes del enfriamiento presentara otro color.

Las livideces o *hipostasia post mortem* son más confiables que la rigidez cadavérica (*rigor mortis*) para calcular el tiempo de la muerte.

Algunos cuerpos nunca muestran livideces, especialmente las personas anémicas, seniles y algunos lactantes. El tiempo de aparición es muy variable, pero generalmente se presenta 2 a 3 horas después de la muerte y son modificables durante las 12 primeras horas de su formación. En las siguientes 12 horas no se modifican, pero aún pueden formarse nuevas livideces. Después de las 24 horas se fijan y ya no es posible que se modifiquen las existentes o que se formen otras nuevas.

Las *hipostasia post mortem*, además de los cambios tóxicos de color, señala que el cuerpo ha sido movido después de la muerte. Si se ve un cuerpo con las zonas rosadas, ya sea en las partes superiores o en un lado, es obvio que debieron haberlo movido, por lo menos unas horas después de su muerte. Sin embargo, puede haber gravitación secundaria y si se cambia de posición posteriormente, por unas horas, parte o toda la lividez puede deslizarse hacia abajo, a las áreas más pendientes.

Si la muerte sobreviene en posición vertical, con la cabeza hacia arriba, tal como cuando el sujeto se cuelga por el cuello, las *hipostasia post mortem* se presentarán en las piernas y en las manos; cuando el cuerpo está invertido, como, por ejemplo, en una persona alcoholizada que se desliza fuera de la cama, las livideces aparecerán en la cabeza y cuello.

En los ojos pueden apreciar numerosas hemorragias, algunas agónicas *post mortem* pueden aparecer en las áreas hipostáticas y en las conjuntivas; algunas veces pueden hacer sospechar sofocación o estrangulación que llevan a la confusión.

En lo que respecta a la rigidez cadavérica o *rigor mortis*, se trata de otro de los signos utilizados para la estimación del tiempo de muerte. Empieza a las tres horas y se completa entre 12 y 15 horas. Desaparece en un lapso que oscila entre 24 y 30 horas.

Este es un tema muy complejo que ha generado muchas investigaciones y publicaciones. Muchos cadáveres se vuelven rígidos en un tiempo que varía después de la muerte, tal cual se ha expresado anteriormente. Este fenómeno se debe a una combinación de actina y miosina dentro de las fibras esqueléticas, cardíacas e involuntarias.

En vida, la energía que se utiliza para la contracción muscular se obtiene por medio de la liberación de un grupo de fosfato de ATP (trifosfato de adenosina) para convertirlo en ADP (difosfato de adenosina), la reacción que convierte el glucógeno en ácido láctico, libera energía y parte de ella se utiliza para convertir nuevamente el ADP en ATP.

Después de la muerte, la segunda vía cesa y el ATP disminuye la acumulación del ácido láctico. Entonces la actina y la miosina se funden irreversiblemente en un gel, provocando rigidez muscular pero no se acortan los músculos, a menos que se ejerza fuerza sobre ellos.

El rigor tiende a aparecer en personas que mueren durante o después de un gran esfuerzo o actividad exhaustiva, mientras que la reducción de glucógeno, disminuye la re síntesis de ATP. En muertes por electrocución, el rigor también puede aparecer mucho más rápidamente de lo usual.

Los ancianos, personas débiles y algunos niños pequeños no siempre presentan rigor, o pueden ser difícil detectarlo, aunque se desarrolla uniformemente a lo largo del cuerpo, según el estado metabólico interno. Generalmente se descubre primero en los grupos musculares menores, como los que se encuentran alrededor del eje y de la boca, los músculos de la mandíbula y de los dedos.

Por lo regular el único interés práctico del *rigor mortis* es para determinar el tiempo transcurrido después de la muerte. Sin embargo, es un proceso tan variable que no se puede esperar exactitud y nunca se tendrá que utilizar aisladamente para calcular el intervalo *post mortem*.

Como se debe a un proceso químico, depende de la temperatura, se presenta más rápidamente si la sangre permanece templada y tarda más si el cuerpo está frío. De hecho, en condiciones de congelamiento o en lugares muy fríos, puede no aparecer completamente hasta que se traslade el cuerpo un depósito de cadáveres, en donde la temperatura es cálida.

En estas circunstancias, no se debe confundir el congelamiento de los tejidos corporales, «rigidez fría», con *rigor mortis*, que se observa solamente en temperaturas bajo cero.

A la inversa, en climas tropicales o en cualquier lugar donde la temperatura ambiental es alta, el *rigor mortis* aparecerá rápidamente y desaparecerá con la misma rapidez. En todos los casos, a la aparición temprana de la rigidez, ya sea debida a la temperatura o al ejercicio preagónico, le sigue una progresión relativamente temprana y después se observa flacidez.

En un ambiente «promedio», el rigor se puede presentar en el transcurso de 1 a 4 horas en el rostro y en los miembros de 4 a 6 horas. La fuerza de la rigidez, que se determina al flexionar cuidadosamente las articulaciones, puede incrementarse hasta 6 a 8 horas. Entonces, la situación se mantiene estática hasta que se inicia la descomposición del tejido. La flacidez secundaria puede aparecer entre 24 a 36 horas.

Hay que tomar en cuenta que los tiempos pueden exceder o disminuir ampliamente, aunque las temperaturas no sean extremosas. La rigidez no indica con precisión el intervalo *post mortem*, y todo lo que realmente se puede suponer en circunstancias promedio, es que si un cuerpo se siente tibio y flácido, es que tiene menos de tres horas de fallecido.

Si se siente tibio y rígido, el intervalo *post mortem* podría estimarse de 3 a 5 horas. En caso de que el cadáver se sienta frío y se encuentre rígido, la muerte pudo haber ocurrido entre 8 a 24 horas antes; y finalmente si el cuerpo se siente frío y flácido, el IPM podría estimarse en más de 24 a 36 horas.

Un fenómeno relativamente extraño, cuando el *rigor mortis* se presenta inmediatamente después de la muerte, se lo denomina «espasmo cadavérico». De hecho, varios expertos niegan su existencia, y a menos que el cuerpo se vea en un muy corto tiempo después de la muerte, es imposible diferenciar la aparición primaria normal de la rigidez con el alegado «espasmo cadavérico».

Su mecanismo no se conoce muy bien, pero probablemente su origen sea neurogénico, en parte, aunque muchos de los casos se observan en persona con estrés físico o emocional exagerados, inmediatamente antes de que se presenta la muerte.

Esto es más común cuando hay bajas en las batallas militares, pero en la práctica civil esto se observa en las víctimas que sufrieron caídas y algunas otras situaciones agudas. Por ejemplo, alguien que cae a un río puede tratar de asirse de la vegetación más cercana en un intento de salvar su vida, y cuando se recupera el cuerpo se le pueden encontrar en las manos pasto o hierbas aprisionados.

De manera similar, en un suicidio con disparo de arma de fuego, se puede encontrar ocasionalmente el dedo sujetando fuertemente el gatillo.

Más allá de los clásicos indicadores, muchos autores dan importancia a otros signos cadavéricos, como ser la opacidad de la córnea, fenómeno que representa la pérdida de la transparencia por deshidratación que comienza a los 45 minutos, con los ojos abiertos y con los ojos cerrados tardan entre 12 y 16 horas.

Por deshidratación se ve la esclerótica (signo de Sommer-Larcher); se presenta transparente y puede verse a través de ella como dos triángulos negruzcos a ambos lados de la córnea, cuando los ojos quedan semiabiertos después de 10 a 12 horas de la muerte.

Al colocar sobre la córnea unas gotas de atropina al 2%, manteniendo luego el ojo cerrado, en las primeras 4 horas se puede obtener como respuesta una midriasis, que es de acción duradera; previamente se habrá medido el diámetro de las dos córneas. En el otro ojo se colocara pilocarpina, que es de acción contraria, es decir que produce miosis; dado que su acción es fugaz conviene hacer la comprobación al minuto de colocarla.

También se pueden lograr evidencias en el cadáver, una vez realizada la apertura del cuerpo para la práctica de autopsia, a través de signos en los órganos internos con el fin de contribuir a determinar el intervalo *post mortem*. La observación del contenido en el estómago es uno de ellos. Taylor afirma que la permanencia en el estómago dependerá del tipo de alimento, pero en líneas generales los líquidos permanecen entre 1 y 2 horas luego de ingeridos; los medianos de 2 a 3 horas; y los pesados (carnes y grasas) de 4 a 6 horas.

La tinción de la cara cólica del hígado, es un fenómeno frecuente de observar en la práctica de autopsias, y aparece alrededor de 24 horas posteriores a la muerte.

Pasadas las primeras 36 horas a 48 horas, los cuerpos muertos atraviesan por una gran variedad de cambios, todo lo cual genera, en principio que los indicadores (rigidez, enfriamiento y lividez, etc.) pierden la capacidad indicativa para determinar el intervalo *post mortem*.

Estos cambios se presentan por medio de los procesos químicos (la mayor parte enzimáticos), o ataques bacterianos y micóticos y la depredación por muchas variedades de vida animal.

Algunos cambios *post mortem* pueden retardar la disolución por años, siglos o hasta milenios, pero solamente la fosilización del material esquelético retiene la forma (aunque no la estructura molecular) permanentemente.

El curso usual de la descomposición, se la denomina «putrefacción», que es la degeneración húmeda que lleva a la licuefacción de los tejidos. En climas templados, se inicia en el tercer o cuarto día, dependiendo de la estación, pero en los trópicos o aun en veranos calurosos en climas templados, la putrefacción puede iniciar unas horas después de la muerte.

Este proceso generalmente se aprecia primero en la pared abdominal, donde las bacterias de los intestinos, como coliformes y clostridios, proliferan y descomponen la hemoglobina en compuestos verdosos que tiñen la piel. Esto generalmente se origina en la fosa iliaca derecha, donde el intestino ciego se encuentra relativamente superficial. Entonces, el cuerpo empieza a hincharse debido a la formación de gas en los tejidos, con inflamación progresiva de la cara, abdomen, mamas y genitales.

Las venas superficiales, especialmente las de los muslos y hombros, se marcan en color rojo o verde, mientras que las bacterias crecen a lo largo de ellas, y da una apariencia que se conoce como «marmórea».

La piel se hace ampulosa cuando la epidermis se separa y se pela, se forman con grandes ampollas que se llenan de líquidos rosáceos o sanguinolentos. La lengua y los ojos se perciben notablemente salientes debido a la presión interna de gas y el líquido sanguinolento se abre paso hacia arriba debido a la descomposición de los pulmones y conductos respiratorios para vaciarlos o «purgarlos» fuera de la boca y las fosas nasales, dando lugar a que los inexpertos consideren que hubo hemorragia sospechosa, siendo que se trata de «líquido cadavérico».

Si el cuerpo se encuentra a la intemperie, será deteriorado por animales depredadores. Las moscas comunes y las moscas azules aparecen sus huevecillos en los ojos, labios, otros orificios corporales y heridas, y rápidamente se desarrollan hasta convertirse en gusanos, los que secretan una enzima poderosa que destruye la piel, la cual ingieren, y de esta manera el proceso de putrefacción se acelera.

Los depredadores mayores, como los perros, los zorros, ratas y ratones, atacan el cuerpo y en lugares más selváticos hasta los mamíferos más grandes o reptiles pueden desmembrar el cuerpo y esparcir sus partes en un área amplia.

La velocidad de putrefacción depende del clima y de los depredadores, pero en unas cuantas semanas, las cavidades corporales explotan y los tejidos se derriten progresivamente. Los órganos más resistentes son la próstata y el útero, los cuales pueden llegar a sobrevivir por varios meses.

En climas templados, los tejidos suaves generalmente resisten 1 a 2 años, los ligamentos y los tendones alrededor de las articulaciones son los más fuertes. La esqueletización ocurre poco a poco, a menos que los animales más grandes destruyan hasta los huesos.

Si una persona muere a la intemperie en climas templados, el cuerpo puede conservarse más tiempo si esto sucede en el otoño o invierno, y no en la estación más cálida. La mayor parte de los cuerpos se esqueletizarán en periodo de un año o dos, a menos que el frío sea extremo.

En áreas muy calurosas y cuando no se lleva a cabo la momificación, la esqueletización puede completarse en semanas aun en veranos calurosos, si intervienen los animales depredadores.

Después de los tres a cuatro días posteriores a la muerte, durante el proceso de putrefacción, el cadáver es invadido por insectos que vienen en oleadas sucesivas. Algunas especies pasan a través de complejos ciclos de vida, que pueden ser utilizados para determinar el mínimo intervalo *post mortem* mediante el estudio de la etapa de maduración de los insectos.

Megnin estableció las bases científicas de la entomología forense, en su obra *Fauna cadavres* (1894). La ciencia es inexacta y es modificada por factores climáticos y geográficos, pero en manos expertas puede ser de utilidad cuando otros indicadores no están disponibles.

Las investigaciones han permitido establecer que la mayoría de las larvas encontradas en cadáveres humanos durante las fases iniciales de putrefacción corresponden a dípteros de la familia *Calliphoridae*.

Otras investigaciones arrojaron como resultado que las especies predadoras del cadáver se diferenciaban según la región en que el cadáver se encontrare.

Jirón, en un análisis de 34 cadáveres, determinó que *Phaenicia eximia* es quizá la especie más común en el Valle Central de Costa Rica, mientras que otro califórido, *Cochleiomyia macellaria*, lo es en las regiones cálidas y húmedas (bosque tropical húmeda). *Calliphora peruviana* parecería ser una especie con distribución restringida a las zonas altas de ese país (Vargas Alvarado, 1996).

En dichos estudios se observó que en condiciones de campo, con variaciones de temperatura de 20.5°C en la noche y 31°C al mediodía y con una humedad relativa de alrededor del 50%, las larvas de

*Cochleiomya macellaria*, tardan aproximadamente siete días en su fase larval. Luego, requieren otros siete días para completar la fase pupal y arribar a la fase adulta.

La longitud de las larvas recuperadas de un cadáver es uno de los criterios que ayudan a la estimación del intervalo *post mortem*. La técnica de recolección es muy simple, para matar las larvas se las sumerge en agua en ebullición.

Posteriormente pueden preservarse en formaldehído y etanol. Estos fijadores tienen además, la ventaja de que no afectan los opiáceos, cocaína o barbitúricos que pueden ser secuestrados por las larvas y que son determinables en ellas toxicológicamente.

Para efectos de clasificación, las larvas de moscas obtenidas de cadáveres pueden identificarse por la morfología de los espiráculos respiratorios posteriores del esqueleto cefalorraquídeo y, algunas veces, de otras estructuras corporales externas de las larvas, lo que determinará el intervalo *post mortem*.

En razón de la dificultad señalada y en la búsqueda de medios que permitan estimar el IPM en términos más precisos, se idearon técnicas procedentes de la química (tanatoquímica forense) que se aplican a cadáveres recientes -menos de 24 horas de evolución ulterior a la muerte-; y de la biología (entomología forense), aplicables a cadáveres no recientes -más de 24 horas de evolución después de la muerte-, respectivamente.

La tanatoquímica forense, se dedica al estudio bioquímico de la evolución que experimenta el proceso de degradación de biomoléculas esenciales (como proteínas, lípidos, entre otras), consecutivo a la muerte.

Tal como lo señaló Coe (1972), el objetivo consiste en el análisis de la relación entre la concentración de elementos orgánicos e inorgánicos de los diferentes órganos del cuerpo y la data de muerte; para ello, se diseñaron diversos estudios bioquímicos que detectan la presencia de dichos elementos en fluidos corporales como el líquido cefalorraquídeo, pericárdico, sinovial y el humor vítreo. Este último es el más valorado, en razón del confinamiento anatómico que lo protege de la contaminación y la hemólisis, a diferencia de lo que ocurre con la sangre.

El humor vítreo es una sustancia que se encuentra en el ojo. Es un órgano par y simétrico, que ocupa el tercio anterior de la órbita y tiene forma esférica, levemente aplanada de arriba hacia abajo.

Si bien se trata de una conformación regular, presenta hacia adelante una saliente también regular, formada por la córnea -que es transparente- y a causa de esta particularidad, está constituido por dos segmentos de esfera cuyos diámetros son diferentes.

Las envolturas del ojo constituyen sus paredes. Son tres capas concéntricas que, desde la periferia hacia el interior, se denominan: externa o fibrosa, constituida por la esclerótica y la córnea; media o vascular, que comprende a la coroides, el cuerpo ciliar y el iris; e interna o nerviosa, la retina.

El ojo contiene al conjunto de órganos y medios transparentes o refringentes, los que son atravesados por la luz para llegar a la retina. Lo integran: una lente -el cristalino- y dos cámaras, una por delante y otra por detrás, respectivamente.

En la cámara comprendida entre la córnea y la lente se encuentra el humor acuoso; está dividida por el iris, en dos partes: anterior y posterior, comunicadas a través de la pupila. El humor acuoso es un líquido incoloro, perfectamente límpido, que proviene de la trasudación de los vasos de los procesos ciliares y del iris; puede fluir hacia el espacio retrozonular y participar en la nutrición del cristalino.

En la cámara ubicada por detrás de la lente, denominada vítrea o postrema, se encuentra el cuerpo vítreo. Es el más voluminoso de los medios transparentes del ojo; ocupa las dos terceras partes posteriores y se aloja en el espacio comprendido entre la lente y la zónula ciliar (adelante) y la retina (atrás).

Tiene dos depresiones: una en el centro de su parte anterior, causada por el cristalino, es la fosa hialoidea; y otra en su parte posterior, frente al disco óptico de la retina. El cuerpo vítreo está limitado por una envoltura que se denomina membrana vítrea (hialoidea) que lo rodea, y resulta de la condensación de las capas periféricas del humor vítreo; no contiene ninguna célula y se invagina en algunos puntos de la cámara vítrea.

El humor vítreo es la sustancia que compone el cuerpo vítreo y le confiere aspecto gelatinoso, bastante semejante a la clara de huevo, con un sistema de hendiduras estrechas, y que se organiza -en su superficie y en círculos concéntricos- mediante fibras delgadas y refringentes, sembradas de células.

Es transparente y está atravesado, de modo completo, por el conducto hialoide en sentido adelante-atrás, desde el polo posterior del cristalino hasta el disco óptico.

El humor vítreo pesa alrededor de cuatro gramos y ocupa un volumen aproximado a cuatro mililitros; ambas magnitudes, en términos exactos, varían con la edad y el tamaño del ojo. El espacio que ocupa es esférico y presenta una depresión en la superficie anterior, denominada fosa patelar, la cual se corresponde con la superficie posterior de la lente cristalina.

Las células vítreas se clasifican en hialocitos, células ovales o reniformes que miden de 10 a 15 micrómetros de diámetro, PAS positivas y tienen la capacidad de sintetizar colágeno; y fibroblastos, que llegan a constituir menos del 10 % de la población celular total del humor vítreo, situado en la base del mismo.

Aunque el humor vítreo está constituido en un 99 % por agua, se asemeja a un gel viscoelástico a causa de su contenido de colágeno y ácido hialurónico (y a la interacción entre ambos), que son sus componentes estructurales mayoritarios.

Es avascular y configura un cuerpo cerrado, que se mantiene unido merced a un fino tramado fibrilar, compuesto, fundamentalmente por largas moléculas de proteoglicanos (Montefusco Pereira & de Matos Alves Pinto, 2016).

La viscosidad característica, disminuye desde la periferia hacia el centro y su reducción se acentúa con la edad. En adultos jóvenes, el 80 % es gel y el 20 % líquido que contiene ácido hialurónico, pero no fibrillas; con la edad, el volumen líquido aumenta hasta el 50 %.

En cuanto a su composición orgánica, el colágeno es la principal proteína fibrilar, en especial del tipo II, y el ácido hialurónico, el principal glicosaminoglicano presente. Este último, es un biomaterial viscoelástico, también predominante en el líquido sinovial de las articulaciones.

Los aminoácidos libres se hallan en concentraciones significativamente menores que en el plasma, y las glicoproteínas contienen inferior cantidad de carbohidratos. El humor vítreo contiene urea, creatinina, sodio, potasio, calcio, magnesio, cloro y fósforo. Las concentraciones químicas y las propiedades físicas son generalmente más estables a bajas temperaturas, condición que también acarrea menor susceptibilidad de contaminación.

El potasio es uno de los electrolitos que se encuentran en el humor vítreo; su metabolismo es uno de los más uniformes en el organismo, pues los sistemas homeostáticos que lo regulan funcionan dentro de límites muy estrechos y por ello, las cifras de su concentración son muy constantes.

Junto a algunos electrolitos, el potasio, solo admite pequeñas variaciones compatibles con la vida y desempeñan un importante rol en los mecanismos de muerte pero en su caso, es de valor decisivo.

Las alteraciones electrolíticas se observan en múltiples patologías y su estudio es de gran utilidad para el conocimiento y diagnóstico fisiopatológico de todas ellas. No obstante, es -al menos teóricamente- la aplicación del comportamiento de los electrolitos a la data de la muerte, el objetivo que ha suscitado un mayor número de investigaciones.

Los procesos celulares por autólisis secundaria a la muerte, racionalmente harían previsible esperar un aumento de electrolitos intracelulares en el suero y en los demás fluidos. Sin embargo, este hecho no siempre se produce y señala la necesidad de conocimientos más pormenorizados.

Aunque se han investigado en otros fluidos corporales, el estudio en el humor vítreo -por sus características estructurales- es considerado el de mayor aptitud, validez y confiabilidad para su investigación. Además, dentro de los electrolitos estudiados, se encuentran el sodio, cloro, calcio, magnesio, cinc y cobre.

Así, se halló que el fósforo y el potasio sufren modificaciones cuantitativas después de la muerte, que están íntimamente relacionadas con el IPM.

Las células que forman el organismo de todos los animales (excepto los más simples, entre los multicelulares), sean acuáticos o terrestres, viven en un «mar interior» de líquido extracelular (en adelante, LEC) contenido entre tegumentos.

Del LEC, las células extraen oxígeno y nutrientes, a la vez que descargan en él, los productos metabólicos de desecho. El LEC es más diluido que el agua de los mares actuales, pero su composición se parece mucho a la de los océanos primordiales en los cuales, presumiblemente, se originó la vida.

En animales con un sistema vascular cerrado, el LEC se divide en dos componentes esenciales: líquido intersticial y plasma sanguíneo circulante. El primero, es la parte del LEC que se encuentra por fuera del sistema vascular y baña las células; mientras que el segundo, se halla dentro del sistema vascular, solo en relación con las células sanguíneas.

Además de los mencionados, se han identificado algunos líquidos especiales, que se agrupan bajo el nombre de líquidos transcelulares.

Las sustancias que se distribuyen en el LEC son detectables en las secreciones glandulares, en el contenido del tubo digestivo, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, humor vítreo y líquidos transcelulares. Su presencia en estos medios, remite a una breve consideración de las membranas celulares.

Las células están rodeadas por una estructura relevante, habitualmente denominada membrana plasmática. Posee la cualidad de ser semipermeable, es decir, que permite su pasaje a algunas sustancias pero no a otras y, además, dicha permeabilidad puede ser variable.

Si bien la estructura química de las membranas y sus propiedades es considerablemente diversa entre un tejido y otro, presentan ciertas características comunes. Están formadas, de modo principal, por proteínas y lípidos.

En cuanto a las proteínas, se destaca que son numerosas, que algunas intervienen como unidades globulares separadas y muchas atraviesan por completo la membrana; que llevan a cabo, por lo menos, siete funciones y que, además de las estructurales, hay otras que funcionan como bombas y transportan iones a través de la membrana, de manera activa.

Algunas de las proteínas que funcionan como transportadoras, cumplen su función a favor del gradiente electroquímico, por difusión facilitada. Otras, constituyen canales iónicos que, cuando se activan, permiten la entrada o salida de iones de la célula.

Hay una diferencia de potencial a través de la membrana de la mayor parte de las células, si no es que de todas, y el interior de las mismas es negativo en relación al exterior. Por convención, este potencial de membrana en reposo (potencial de reposo) se escribe con un signo negativo, lo cual significa que el interior de la célula es negativo con relación al exterior.

Las membranas celulares son prácticamente impermeables a las proteínas intracelulares y a otros aniones intracelulares. La difusión de moléculas polares no cargadas pero grandes (como la glucosa) y la de las partículas cargadas (como los iones), es muy lenta.

No obstante lo expuesto, los iones, la glucosa, la urea y muchas otras moléculas pequeñas también utilizan los canales iónicos y otras proteínas de transporte, para atravesar las membranas celulares.

Las moléculas se mueven desde áreas de concentración elevada hasta otras de concentración baja (siguen sus gradientes químicos); y, mientras los cationes se mueven hacia áreas cargadas negativamente, los aniones lo hacen hacia áreas con cargas positivas (a favor de su gradiente eléctrico).

Las proteínas transportadoras, al mover las sustancias en la dirección de sus gradientes químicos o eléctricos, no realizan gasto de energía y el proceso se llama difusión facilitada. Por el contrario, cuando el transporte de sustancias se efectúa contra sus gradientes eléctricos o químicos, se requiere energía y recibe la denominación de transporte activo.

En las células animales, la energía se obtiene -casi exclusivamente- de la hidrólisis del ATP; por esa razón, las moléculas transportadoras son ATPasas (enzimas que catalizan la hidrólisis del ATP).

Una de ellas es la trifosfatasa de adenosina activada por sodio y potasio, a la cual se la identifica como «bomba de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ », la que se ocupa de catalizar la hidrólisis de ATP en ADP y utiliza la energía obtenida mediante dicho proceso para retirar de la célula tres iones  $\text{Na}^+$  e introducir en ella dos iones  $\text{K}^+$ , por cada mol de ATP hidrolizado.

En consecuencia, se dice que la bomba tiene una relación de acoplamiento de 3/2 y se la califica como «electrógena», es decir, productora de un movimiento neto de cargas positivas hacia fuera de la célula. Esta ATPasa se encuentra en todas las regiones del organismo. El transporte activo de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  es uno de los procesos del organismo que consume más energía. En promedio, es el causante del 33 % de la utilización energética por las células, y en las neuronas, del 70 %; por esa razón, es responsable de gran parte del metabolismo basal.

Los iones cloruro tienen mayor concentración en el LEC que en el líquido intracelular (en adelante, LIC) y tienden a difundir a favor de este gradiente de concentración, hacia el interior de las células. El LIC es negativo con relación al exterior y los iones cloruro (aniones) son empujados hacia afuera de la célula, a favor de dicho gradiente eléctrico.

Esta dinámica alcanza un equilibrio en el cual, se iguala a la entrada y la salida de dicho ion. El potencial de membrana en que se produce ese equilibrio se llama, precisamente, potencial de equilibrio.

En el caso del catión  $\text{Na}^+$ , la situación que se genera es bastante diferente a la propia del  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$ . La dirección del gradiente químico para el  $\text{Na}^+$  se orienta hacia el interior celular, es decir, hacia el

lugar de menor concentración y en la misma dirección se orienta el gradiente eléctrico; acorde a lo expuesto sería esperable que la célula gradualmente ganara  $\text{Na}^+$  y perdiera  $\text{K}^+$ , si a través de la membrana solo actuaran las fuerzas pasivas, eléctricas y químicas. Sin embargo, la concentración intracelular de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{K}^+$  permanece constante; ello se debe a la existencia de un transporte activo de  $\text{Na}^+$  hacia el exterior celular, contra sus gradientes eléctricos y de concentración y además, dicho transporte está acoplado a otro -también activo- de  $\text{K}^+$ , hacia el interior de la célula. La distribución de iones a través de la membrana celular y la naturaleza de dicha membrana, explican el potencial de la misma.

El gradiente de concentración para el  $\text{K}^+$  facilita su movimiento hacia el exterior de la célula a través de los canales para dicho ion, pero su gradiente eléctrico se orienta en dirección opuesta (hacia adentro).

La consecuencia de la dinámica expuesta, es el alcance de un equilibrio en el cual la tendencia del  $\text{K}^+$  a moverse hacia afuera de las células es igualada por su tendencia a moverse en sentido contrario, aunque en dicho estado de equilibrio, hay un leve exceso de cationes del lado externo y de aniones del lado interno.

Esta situación se mantiene por la actividad de la  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ATPasa, que bombea  $\text{K}^+$  de regreso hacia el interior de la célula y mantiene baja la concentración intracelular del  $\text{Na}^+$ .

En la homeostasis del potasio, lo importante es mantener constante su concentración extracelular pues, pequeñas variaciones pueden significar grandes alteraciones. La relación entre la concentración de potasio intra y extracelular determina el potencial eléctrico transmembrana; por ello, las alteraciones del metabolismo del potasio causan manifestaciones clínicas secundarias a cambios en la polaridad de la membrana celular.

La concentración de potasio sérico se mantiene en un rango muy estrecho, entre 3,5-5 mEq/L (3,5-5 mEq/L), regulándose su homeostasis a través de dos sistemas: a) Intercambio intraextracelular de potasio (regulación rápida), b) Excreción de potasio (regulación lenta).

La relación potasio intra-extracelular, depende de:

a) El equilibrio ácido-básico (en estados de acidosis, el potasio sale de la célula al extravascular y en los de alcalosis, entra a la célula).

b) Los factores hormonales (la insulina, las hormonas tiroideas, las catecolaminas beta adrenérgicas y, probablemente, la aldosterona inducen la entrada de potasio al LIC. En cambio, las catecolaminas alfa adrenérgicas y los glucocorticoides inhiben la entrada de potasio a la célula).

c) La osmolaridad del líquido extracelular determina movimientos del potasio desde el espacio extracelular al intracelular.

d) La excreción de potasio (regulación lenta) (Toledo, 2013).

La ingesta diaria de potasio es de aproximadamente 50 a 150 mEq, el 100 % es absorbido (no se ajusta a una regulación específica) y su vía de excreción es fundamentalmente renal.

El proceso de eliminación es rápido en estados de hiperkalemia, pero el riñón no es tan eficaz para retener potasio en los de hipokalemia. En situación crónica, la excreción del potasio puede multiplicarse hasta 20 veces, en respuesta al aumento idéntico en los aportes, sin modificación importante del contenido de potasio en el organismo ni de la concentración extracelular del mismo.

La secreción de potasio en el colon juega un papel modesto en la homeostasis del ión; con excepción de las situaciones de insuficiencia renal muy avanzada, ya que la funcionalidad excretoria renal está severamente comprometida.

La filtración glomerular es, normalmente, de alrededor de 180 l/24 horas y la kalemia, de 4 mmol/l. La cantidad filtrada diariamente, es de alrededor de 720 mmol/l, la que resulta suficiente para asegurar la eliminación de un aporte normal de potasio (80 a 100 mmol/24 horas); pero basta una reducción del 10 % del valor normal de filtración, para que no sea capaz de lograrse la excreción total de la ingesta.

El potasio filtrado se reabsorbe en los túbulos contorneados proximales, superficiales y profundos. La parte descendente del asa de Henle es, a la inversa, el lugar de secreción del potasio desde el intersticio hacia la luz tubular. En la parte ascendente del asa de Henle, principalmente en la rama ancha, se produce una reabsorción neta del potasio.

El tubo contorneado distal es el lugar débil de secreción del potasio mientras que los segmentos correspondientes al túbulo conector y canal colector cortical son los principales lugares en los cuales se produce una secreción regular del potasio.

Asimismo, en el canal colector medular interno, el potasio será secretado y reabsorbido según las condiciones fisiológicas.

La secreción depende de:

- a) La acción de la aldosterona.
- b) El gradiente electroquímico dado por la concentración de potasio en las células del túbulo distal.
- c) El volumen urinario suministrado al lumen del túbulo distal (a mayor volumen, mayor secreción).
- d) El estado acido-básico (la alcalosis metabólica aumenta la secreción) (Toledo, 2013).

La hiperkalemia o concentración plasmática de potasio mayor de 5 mEq/l (algunos autores definen hiperkalemia con cifras superiores a 5,5 mEq/l) es la más grave de las alteraciones electrolíticas, porque puede provocar arritmias ventriculares fatales de forma rápida.

Frente a toda hiperpotasemia corresponde, en principio, descartar la existencia de una pseudohiperpotasemia, consistente en elevaciones ficticias del potasio sérico, por liberación del potasio de las células sanguíneas.

Se puede observar en situaciones de hemólisis in vitro (frecuente cuando se produce un reposo prolongado de la muestra; cuando se la agita vigorosamente en el tubo de ensayo o cuando se produce una compresión duradera e intensa con el lazo, al extraer sangre venosa), trombocitosis y leucocitosis importante.

Otras causas de hiperpotasemia son:

1) La defectuosa eliminación renal (insuficiencia renal aguda y crónica; hipoaldosteronismo hiporreninémico -nefropatía diabética, uropatía obstructiva y nefropatía intersticial crónica;- insuficiencia suprarrenal -enfermedad de Addison-)

2) Los fármacos que inhiben la excreción renal de potasio

3) Las alteraciones renales que modifican el túbulo distal -trasplante renal, lupus eritematoso sistémico, drepanocitosis, amiloidosis, mieloma múltiple-.

4) Las alteraciones en la distribución del potasio -déficit de insulina, betabloqueantes beta-adrenérgicos-

5) La acidosis metabólica o respiratoria y parálisis periódica hiperpotasémica familiar.

6) La liberación de potasio por destrucción celular: rabiomólisis, lisis tumoral, quemaduras, traumatismos, hematomas, ejercicio físico intenso (Toledo, 2013).

#### 1.4.3 La determinación del IPM a través del potasio en el humor vítreo:

El cuerpo, en vida, mantiene una alta concentración de potasio en el fluido intracelular (2 a 40 veces mayor a la concentración de potasio en el plasma). Esta circunstancia requiere un balance de las cargas, tanto dentro como fuera de la membrana celular, y la relativa alta concentración es mantenida por fuerzas metabólicas activas que «bombean» los electrolitos -selectivamente- a través de la membrana.

Después de la muerte se produce un retorno al equilibrio, a un ritmo constante, debido a que la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  se inactiva y la pared de la célula se convierte en una membrana semipermeable, que

permite la filtración del potasio desde el interior celular, lo que conduce a un aumento de los niveles de potasio en el líquido extracelular.

Así, y en razón del ritmo constante del flujo de potasio en el período *post mortem*, es posible realizar una retroproyección de la hora de muerte y estimar el IPM. Madea, Henssge, Honig y Gerbracht (1989) señalan que la permeabilidad de la membrana se pierde dentro de pocas horas después de la muerte: en el líquido cefalorraquídeo, dentro de las 15-20 horas *post mortem* y en el humor vítreo, después de las 120 horas; por ello, el humor vítreo es uno de los compartimentos preferidos para estudiar los cambios químicos *post mortem* (Oyarzo, Gallardo, 2013).

La tanatoquímica es una ayuda importante, aunque tiene limitaciones. Si bien se conocen las transformaciones de los constituyentes bioquímicos en el período *post mortem*, especialmente en la sangre, los resultados de las investigaciones publicadas están sujetos a controversia, a causa de la rapidez con la que experimentan alteración o contaminación.

Por esta razón, se ha enfatizado el examen de otros fluidos menos susceptibles a dichos cambios después de la muerte, y a tales fines, se ha utilizado al humor vítreo, líquido cefalorraquídeo, líquido pericárdico y líquido sinovial, tal como se ha señalado anteriormente (Arroyo, Carbone & Ordoñez, 2004).

El proceso de autólisis cadavérica es un fenómeno secundario a la anoxia, acidez, desnutrición celular, descenso de la temperatura, entre otros ulteriores a la muerte. Ocurre en el citoplasma celular, tras la destrucción de la membrana de los lisosomas y posterior liberación de lisozima, por lo que la autólisis es producida por las propias enzimas del organismo sin intervención de bacterias (Botta, 2015).

Las condiciones ambientales que acompañan el cuerpo son importantes y siempre deben ser consideradas. Por ejemplo, la autólisis -que es un proceso normal a temperatura ambiente- se acelera en un clima tropical, lo mismo que ocurre con la putrefacción; mientras que se retrasan en un clima frío.

La putrefacción se inicia y desarrolla de manera asincrónica, en los diversos tejidos y órganos. El cerebro es el más frágil y sensible, mientras que el corazón, el útero y la próstata son más resistentes.

La membrana que envuelve el globo ocular es muy resistente y el humor vítreo es la sustancia de elección, según varios investigadores, para la determinación del potasio; ello es así, dado que es el principal ion intracelular que aumenta su concentración en el humor vítreo al aumentar la autólisis de los glóbulos rojos (Botta, 2015).

Los métodos de estudio son llamados químicos y bioquímicos y, preferentemente, se utilizan en los cadáveres recientes. Están basados en la detección de sustancias cuyo aumento se halla relacionado con el grado de destrucción celular que determina el paso del tiempo en el cadáver.

Su empleo tiene, principalmente, dos tipos de obstáculos: por un lado, los derivados de la estabilidad de la sustancia investigada (debe seleccionarse una sustancia o principio químico estable) y, por otro, los que proceden de las características propias del medio o humor en el que se la investiga.

La estabilidad del principio químico se refiere a la cualidad de ser lo menos modificable posible por acción de situaciones patológicas o de otro tipo, existentes antes de fallecimiento del sujeto. Se comprende fácilmente, que una sustancia como la hemoglobina de la sangre puede partir de valores premortales muy variables, según las personas y las situaciones concretas anteriores al fallecimiento o dependiendo de la causa concreta del mismo.

El concepto de estabilidad se extiende también al hecho de que la sustancia debe afectarse escasamente por la descomposición cadavérica y por las circunstancias del medio en que haya permanecido el cuerpo.

En cuanto a las características del medio o humor en que el principio químico habrá de investigarse, algunos de los estudios iniciales partieron del examen de la sangre, pero no resultó adecuado pues las sustancias que la integran pueden experimentar drásticos cambios, *pre y post mortem*.

Otros líquidos corporales, como el pericárdico, resultan de utilidad para el estudio de enfermedades cardíacas pero no es idóneo para la determinación del IPM y lo mismo puede decirse del líquido cefalorraquídeo y del líquido sinovial.

En la actualidad se considera que, probablemente, el medio más apropiado para realizar análisis de tanatoquímica, es el humor vítreo. El ojo constituye una cámara estanca, poco influenciable por variaciones homeostáticas y, al mismo tiempo, es resistente a la putrefacción inicial.

En cuanto al principio químico, si bien el potasio ha sido utilizado para la estimación del IPM desde hace bastante tiempo, los diferentes estudios y fórmulas no proporcionan conclusiones categóricas.

En efecto, los resultados obtenidos en distintas series, no son los mismos. Las causas de esta variabilidad en las concentraciones de potasio en humor vítreo pueden derivar del hecho de que el potasio es influenciado por situaciones como la edad del sujeto, la temperatura ambiente y la existencia de enfermedades previas, entre otros posibles factores.

Lange, Swearer y Sturmer, (1994) han analizado los datos procedentes de seis estudios, con un total de 790 casos, y rechazan que el modelo de ecuación lineal y de varianza constante sea aplicable a la determinación del IPM a través del potasio en humor vítreo.

Estos autores adaptan curvas de regresión a cada uno de los diferentes estudios y después las combinan para obtener una única curva de regresión, con bandas del 95 % de confianza. Este último

trazado lo usan para realizar estimaciones de niveles de confianza altos, medios y bajos, del cálculo de IPM ante determinados valores de potasio en humor vítreo.

Otros autores, en lugar de recurrir exclusivamente a estimaciones matemáticas del IPM a partir del potasio intraocular, intentan obtener un estándar interno para valorar la fiabilidad de las cifras; sostienen que la relación entre las concentraciones de potasio en humor vítreo y el tiempo transcurrido desde el fallecimiento están, principalmente, influenciadas por desequilibrios electrolíticos premortales debidos a enfermedad o duración del episodio terminal.

Entre los elementos presentes en el humor vítreo que justificarían el desequilibrio electrolítico premortal se encuentra, principalmente, la urea. En estudios de casos en que las concentraciones de urea son inferiores a los 100 mg/dl, se observa que se estrecha notablemente el intervalo de estimación del IPM, a valores de  $\pm 24$  horas a un nivel de confianza del 95 %. Si se incluye todo tipo de casos (ureas superiores a los 100 mg/dl), este intervalo se amplía a 34 horas.

En cuanto a la duración del episodio terminal, si es inferior a 6 horas, la precisión es de alrededor de  $\pm 20$  horas. Así pues, considerando estas dos variables (concentración de urea y duración del proceso terminal), puede conseguirse una estimación más precisa del IPM.

Estudios experimentales parecen confirmar que los niveles de urea y de creatinina en humor vítreo se correlacionan fuertemente con sus concentraciones séricas premortales. Estos mismos trabajos subrayan que no puede efectuarse una estimación de la concentración premortal de electrolitos en suero a partir de su concentración en los fluidos del ojo, ya que se observa gran variabilidad entre los valores medidos en suero y en el humor vítreo.

En cuanto a la creatinina en humor vítreo, también ha sido propuesta como método para estimar el IPM. Piette ha observado su aumento gradual hasta 10 días después de la muerte; no obstante, su eficacia pasaría por su uso conjunto con otros parámetros y, especialmente, en la determinación del período tardío (más de 3 días).

Algunos trabajos señalan la utilidad de la determinación de hipoxantina en humor vítreo, a partir de la observación de su aumento *post mortem*, por tratarse de un marcador bioquímico de hipoxia que se acumula en los fluidos corporales durante la degradación hipóxica del adenosín monofosfato (AMP), durante los minutos subsiguientes a un evento de esta naturaleza (Montefusco-Pereira & de Matos Alves Pinto, 2016).

En el estudio de James, Hoadley y Sampson (1997), se sugiere que al combinar las dos variables (potasio vítreo e hipoxantina), la precisión de las estimaciones de IPM mejora, en comparación con las realizadas en base a las concentraciones de potasio o hipoxantina, exclusivamente.

Además, se proponen ecuaciones para la determinación del IPM en base al potasio y a la hipoxantina, respectivamente. En relación con esto, cabe tener presente que la hipoxantina es un producto de degradación de la adenosina, a la que se le asigna valor de un indicador de hipoxia cerebral y de allí su relación con el IPM.

Sin embargo, en estudios posteriores, (Madea et al., 1989), a partir de la medición de las concentraciones de hipoxantina en humor vítreo y LCR, han mostrado que la correlación entre el potasio en humor vítreo e IPM es mejor que entre hipoxantina e IPM.

Aunque se sabe que existe un aumento significativo y progresivo de la concentración de potasio después de la muerte, la controversia radica en establecer si dicho aumento es lineal o bifásico (Montefusco-Pereira & de Matos Alves Pinto, 2016).

Otros aspectos en discusión son el nivel de confianza y el efecto de los factores variables. En primer lugar, los valores de potasio difieren entre un ojo y el otro; algunas veces, de manera bastante considerable. Luego, una de las cuestiones que trae errores de resultado, es lo concerniente a la toma de la muestra: las que son pequeñas o marginales presentan variaciones importantes; en caso de forzar la aspiración o de realizarla muy cerca de la retina, los fragmentos celulares distorsionan los valores porque el potasio alcanza al humor vítreo como consecuencia de la fuga desde la retina.

Con relación al aspecto operatorio, es oportuno mencionar una consulta reciente realizada al Instituto de Criminalística de la Policía Federal de Brasil, en la que se constató que si bien existen profesionales capacitados para el muestreo de vítreo, nunca lo han puesto en práctica; además, que los peritos del laboratorio nunca analizaron este tipo de matriz. Dicha negligencia puede ocasionar una pérdida de información crucial dentro del análisis bioquímico del humor vítreo.

Acerca de las diferentes técnicas analíticas para la determinación de potasio, se advierte que proporcionan valores diferentes cuando se comparan los obtenidos mediante fotometría de llama (más antigua) y las basadas en la selección por electrodos (más modernas)(Montefusco-Pereira & de Matos Alves Pinto, 2016).

Entre los extremos mencionados existe una diversidad metodológica, pero los más frecuentes son la potenciometría y la fotometría de llama. Ferslew propuso el análisis por ion capilar, electroforesis capilar, que posee buena correlación con la potenciometría directa con ion selectivo; no obstante, se conoce que no muchos laboratorios disponen de este elemento. La posibilidad de efectuarla por fotometría de llama es mucho más accesible (Botta, 2015).

Respecto a la potenciometría, para la determinación del ion potasio se recomienda un electrodo ion selectivo. El aparato es fundamentalmente un peachímetro con varias funciones, de entre las que se selecciona la utilización del electrodo específico (potasio) y un amplificador con conversor analógico-digital, que procesa los datos haciéndolos legibles en un display.

El método genera una diferencia de potencial que luego es medida, basada en la selectividad de distintas membranas del electrodo para dejar pasar determinados iones.

La potenciometría es uno de los recursos logrados por la electromedicina, disciplina que amalgamó los procesos biológicos con la electrónica. Luego de la invención del pechímetro, se desarrolló un electrodo que permite el paso selectivo de un elemento a través de su membrana.

Una vez dentro, dicho elemento produce un voltaje del orden de los milivoltios, que se amplifica y mide. Para el caso del  $K^+$  en humor vítreo mediante electrodo ion selectivo, se lo calibra con una solución de concentración conocida de potasio (cloruro de potasio de alta pureza); esta droga se denomina patrón primario y se la diluye en un agua bidestilada, para evitar errores.

Luego de la calibración del equipo, el electrodo se sumerge en la muestra de humor vítreo y se realiza la medición (Botta, 2015).

Botta (2015), expresa que la técnica alternativa es la que usa fotómetros de llama. Son equipos destinados a la medición de sodio y potasio en sangre, aunque algunos permiten también la de litio (útiles en el control de pacientes sometidos a litioterapia).

El fotómetro de llama es, como su nombre lo indica, (photos: luz; metro: medir) un instrumento capaz de medir la luz emitida por una llama en la que interviene el ion a analizar. Cada metal (en este caso si está en solución es llamado ion), calentado sobre una llama de mechero en determinadas condiciones, produce un color característico; así, un compuesto de sodio produce un color amarillo-anaranjado o el potasio, una coloración violeta.

Este efecto -color- permite al fotómetro la determinación de la concentración de una solución desconocida, luego de calibrar el aparato con una solución cuya concentración es conocida. La sensibilidad del fotómetro de llama es muchísimo más baja que la de un electrodo ion selectivo (sensibilidad ion selectivo: 0,001 mg/L y sensibilidad fotómetro de llama: 23 mg/L), pero extraordinariamente más accesible y económica.

Una de las principales desventajas en el análisis del humor vítreo es que los métodos que se aplican en la actualidad, solamente están calibrados y validados para análisis de plasma u orina. Asimismo, desde hace décadas, se han observado variaciones en los valores bioquímicos debidos a la instrumentación.

Otro problema, a causa de la alta viscosidad del humor vítreo, es la poca repetitividad en el análisis de un mismo electrolito, en la misma muestra y por el mismo analista.

Por lo tanto, se ha intentado reducir dicha viscosidad, mediante diferentes métodos de pretratamiento de la muestra, recomendándose la utilización de hialuronidasa, calentamiento,

licuefacción por ultrasonido y centrifugación, ya sea por separado o de manera combinada (Montefusco-Pereira & de Matos Alves Pinto, 2016).

El calor y el tratamiento con hialuronidasa, generan valores ligeramente superiores o inferiores en la medición de electrolitos y de glucosa, pero en la determinación de la concentración de calcio, los dos métodos (especialmente el del calor) se asocian con valores extremos, bajos o altos.

Montefusco y Cols. (2016) refieren que las diferencias entre ultrasonido y centrifugación muestran variaciones relativamente pequeñas y están cerca del valor de la precisión del instrumento.

Por esta razón, se recomienda la centrifugación combinada con agitación, como el mejor método y de mayor sencillez para preparar las muestras congeladas destinadas al análisis.

La medición de lactato demuestra que los métodos analíticos calibrados para suero y orina, no pueden aplicarse directamente en humor vítreo.

A pesar del uso y las investigaciones realizadas al respecto, aún se discute si los niveles de potasio conservan linealidad de manera suficiente como para poder correlacionarse adecuadamente con el tiempo de la muerte.

Nuevas observaciones demuestran que hay constantes específicas de comportamiento no lineal del potasio. Sin embargo, la falta de linealidad no debe ser un factor limitante, sino una guía para mejorar la práctica clínica que trabaja de cerca con las evidencias de la investigación aplicada. La interpretación de los datos obtenidos a partir de la literatura y del análisis del humor vítreo puede ser muy problemática. La redistribución *post mortem* puede alterar factores tales como la dosis y las fases de distribución y eliminación, así como los hallazgos clínicos y el momento de la muerte.

Numerosos autores han investigado los niveles de potasio en humor vítreo para estimar el IPM. De hecho, pueden utilizarse varios algoritmos para realizar dicha estimación. Pero cabe destacar, que estos algoritmos provienen de diseños de estudio fundados en presunciones que vulneran el principio de adecuación a cada caso, ya que excluyen los casos de patología renal y no ponderan en qué medida esta circunstancia afecta -de manera directa- la estimación del IPM y desconocen si dicha patología constituye un factor clave del escenario forense.

Otros, usan criterios de inclusión y exclusión o muestran diferencias en el muestreo y tratamiento estadístico, aspectos todos que atentan contra la aplicación universal de las ecuaciones. A pesar de la amplitud de las investigaciones sobre el uso de potasio para la estimación del IPM, todavía no se ha llegado a un consenso.

Los algoritmos propuestos por los diferentes autores para la estimación del IPM tienen el denominador común de considerar en una aproximación lineal, la difusión de las células circundantes en el humor vítreo.

La certeza de dicha linealidad amerita una revisión conceptual crítica, e inclusive, profundizar la investigación a partir de modelos no lineales, que pueden demostrar que el nivel de potasio es un factor clave, si se toman en cuenta las constantes adecuadas (especialmente para períodos de IPM más prolongados, en los que se puede observar que los niveles de potasio alcanzan una meseta y luego, se ven afectados por cambios en otros factores, como la temperatura ambiente o la edad).

La posibilidad de que las muestras de humor vítreo puedan presentar anomalías intrínsecas, relacionadas con enfermedades oftalmológicas, no es considerada por la extensa literatura en la que se reportan sus posibles alteraciones bioquímicas y toxicológicas.

Se trata de un aspecto vinculado al señalamiento de numerosos autores quienes remarcan que las diferencias en las determinaciones de la concentración de potasio y los resultados del IPM, pueden obedecer a la técnica de recolección de la muestra o al método de análisis en dichas muestras (Montefusco-Pereira & de Matos Alves Pinto, 2016).

Respecto a las fórmulas para calcular el IPM a través de la concentración de potasio es a partir de la década de 1960 cuando adquirieron mayor interés y, en consecuencia, se registra la mayoría de las publicaciones.

En 1959, H. N. Naumann, fue uno de los primeros investigadores que describió la correlación potasio-IPM y sugirió, además, que el notorio incremento del ion se debía, principalmente, a los cambios de permeabilidad a nivel de la coroides, retina vascular y membranas celulares. En 1962, W. G. Jaffe, analizó 31 autopsias y confirmó el aumento de los niveles de potasio en humor vítreo, verificándose desdepoco después de la muerte y hasta transcurridas 125 horas. Asimismo, fue el primero en proponer un modelo estadístico para esta relación.

W. Q. Sturner y G. E. Gantner (Jr.) en 1963, con fundamento en un estudio de muestras provenientes de 91 autopsias, propusieron una ecuación de la recta, estableciéndola mediante el método de los mínimos cuadrados ( $Y = 7,14 \times [K^+] - 39,1$ ). El error de desviación estándar de la recta fue de 4,7 horas, con un coeficiente de correlación de 0,99.

Otros investigadores observaron que el aumento de los niveles de potasio *post mortem* era lineal en el tiempo. Sobre este dato, Sturner y Gantner confirmaron su utilidad para establecer el IPM y sugirieron el primer modelo de regresión lineal en el que demostraron una correlación significativa. Asimismo, observaron que después de 120 horas *post mortem*, el aumento de los niveles de potasio vítreo comenzaba a permanecer constantes, en probable estado de equilibrio.

Numerosas ecuaciones reportadas en la literatura médica fueron coincidentes con las observaciones referenciadas y sirvieron de apoyo experimental a la estimación precisa el IPM, a partir de la concentración de potasio *post mortem* en el humor vítreo.

En muchos casos, se basaron en el modelo de regresión lineal. La ecuación de Sturner y Gantner fue ampliamente recomendada por Coe en 1989, para el uso práctico. No obstante, la principal desventaja que presenta es que se trata de una pendiente plana y, además, se observó una diferencia significativa entre los valores reales de potasio *post mortem* y los valores estimados de potasio (Oyarzo Gallardo, 2013).

Más tarde, Madea y cols. idearon otra ecuación ( $IPM = 5,26 \times [K^+] - 30,9$ ) cuya regresión lineal tenía una pendiente más pronunciada; además, sugirieron que la ecuación de Sturner y Gantner había sobreestimado el IPM debido a la pendiente plana que se obtiene, mientras que la propuesta -con una pendiente más pronunciada- no tenía desviaciones sistemáticas.

Lo expuesto, evidenció que cuando se utiliza potasio vítreo en la estimación del IPM, la ecuación con una pendiente más pronunciada debe preferirse, pues evita cualquier sobreestimación sistemática en los resultados.

Posteriormente, R. A. James y cols. crearon una ecuación ( $IPM = 4,32 \times [K^+] - 18,35$ ) que produjo una sobreestimación de 0,4 horas, con una desviación estándar de 18 horas.

Los datos utilizados, al sustituirlos en las ecuaciones de Sturner y de Madea y cols., determinaron una sobreestimación de 9 horas (desvío estándar de 30 horas) y una subestimación de 2 horas (desvío estándar de 22 horas), respectivamente.

Oyarzo Gallardo (2013) refiere que las variaciones obtenidas del potasio vítreo *post mortem* son explicables a través de la consideración de factores que, recientemente, se han clasificado en externos e internos. Los factores externos comprenden la toma de muestras, la instrumentación y la temperatura ambiente del cuerpo durante el período *post mortem*. Los factores internos, son la edad y el estado metabólico antes de la muerte del individuo.

Varios autores destacan el efecto de la temperatura sobre el potasio vítreo *post mortem*; Komura y Oshiro (1977) fueron de los primeros en sugerir su significativa influencia, señalando que las temperaturas cálidas tienden a aumentar las tasas de potasio vítreo en comparación con las temperaturas bajas.

Schoning y Straffuss (1980) experimentaron con perros mestizos y demostraron que el aumento de los valores de potasio con aumento de IPM, es dependiente de la temperatura. Asimismo, determinaron que se observan distintas líneas de aumento del ion potasio, según se lo someta a temperaturas de 4 °C, 20 °C y 37 °C.

Bray (1985) estudió 25 casos de muertes por inmersión en agua y encontró que en agua fría, la concentración de potasio vítreo aumenta de forma lineal durante un período de 7 días; y, en agua caliente, el aumento es mucho más rápido durante el tercer al cuarto día después de la muerte.

No se estima ocioso volver sobre una cuestión ya aludida con anterioridad, las técnicas de muestreo. En tal sentido, debe tenerse presente primero, que la obtención de la muestra de humor vítreo requiere la previa remoción de todo el fluido del ojo para que éste pueda ser aspirado; ello es así, por cuanto el humor vítreo se encuentra al lado de la retina, pero ambos tienen diferentes concentraciones de soluto.

En segundo término, la muestra vítrea debe ser aspirada lentamente para evitar la fragmentación de tejidos, ya que ellos pueden distorsionar los electrolitos del cuerpo vítreo, los que mayoritariamente derivan de sus células (Oyarzo Gallardo, 2013).

Numerosos estudios de muestras de plasma y humor vítreo demuestran que los valores obtenidos para algunos componentes, pueden variar de acuerdo con el método analítico utilizado. Tales variaciones, comúnmente, no originan errores de interpretación respecto de sustancias como la glucosa o la urea; pero sí afectan la evaluación de electrolitos como el sodio o potasio.

La razón indicada podría explicar la variación en los valores encontrados por Stephen y Richards, que utilizaron fotometría de llama en algunas mediciones y en otras, potenciometría directa con electrodo de ion selectivo para potasio.

Oyarzo Gallardo (2013) manifiesta que un aspecto importante en la utilización de la bioquímica vítrea consiste en la diferencia de concentraciones observada entre ambos ojos de un fallecido a IPM idénticos. Balasooriya, Hill y Williams señalaron que se producen cambios significativos en los niveles de electrolitos al medir las concentraciones de dichos electrolitos vítreos de cada ojo en forma separada. No obstante, muchos investigadores asumen que las concentraciones bioquímicas vítreas son idénticas y los cambios *post mortem* ocurren a la misma velocidad, en ambos ojos.

En un trabajo de investigación de reciente publicación, el equipo encabezado por José Ignacio Muñoz Barús (médico especialista del Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Santiago de Compostela) logró desarrollar un nuevo software de patología forense.

Los autores comenzaron analizando las concentraciones de potasio, urea e hipoxantina presentes en el humor vítreo del ojo del cadáver y luego, introdujeron las cifras en un programa informático. Se trata de un modelo matemático de regresión lineal de las concentraciones de dichas sustancias, sostenido más o menos constante a lo largo del IPM.

Pero nuevos análisis sugieren que esas premisas no son válidas; que resultan más flexibles y mucho más útiles los modelos estadísticos conocidos como *generalized additive models* (GAM) o los *support vector machine* (SVM), ya que evitan la asunción de linealidad (Muñoz Barus et al. 2008).

Refieren que la precisión y utilidad de los modelos GAM y SVM está confirmada por análisis químicos en más de 200 muestras de humor vítreo en las que la estimación de IPM se realizó a partir de cuatro variables predictoras: concentraciones de potasio, hipoxantina y urea, y causa de la muerte.

Sin perjuicio del valor de todos los avances reseñados, subsisten investigadores que plantean controversias en cuanto a sus resultados y su contribución a la determinación del IPM, debido a la diversidad de fórmulas creadas para su cálculo. Ello, permite deducir que lo cuestionable es la existencia de una constante de regresión que permita generalizar la técnica y lograr la determinación eficaz de la hora de la muerte.

La persistencia de disenso en la comunidad científica, exige continuar investigando en esta línea con el fin de dar luz al problema y lograr mayor precisión en la determinación de la hora de la muerte en cadáveres recientes, es decir, dentro de las primeras veinticuatro horas posteriores al óbito.

En síntesis, la cuestión mantiene su complejidad y dificultades para esclarecerla, por lo cual, es aconsejable la resolución, en todo caso, mediante el máximo posible de datos y dejando de lado aquellos que no encajen de modo coherente en el conjunto. Cuanto más alejado se esté del fenómeno de la muerte, mayor será el error; de allí, la necesidad de un pronto y exhaustivo análisis determinativo.

## **CAPÍTULO 2**



## 2.1 Resultados:

### 2.1.1 Bioquímica vítrea y correlación con el Intervalo *Post Mortem* (IPM):

Para determinar una correlación lineal entre el potasio vítreo y el IPM, solo se incluyeron en este aspecto del estudio, los ojos de los animales (bovinos) que fueron faenados en frigorífico en los que se documentó el momento preciso de la muerte. El grupo de estudio se limitó a 60 ojos. Aunque los aspirados del ojo izquierdo y derecho se recogieron y se analizaron por separado, el potasio estudiado no exhibió ninguna diferencia significativa entre los ojos. Por lo tanto, para un análisis estadístico adicional de los datos, solo se consideraron los valores medios de ambos ojos.

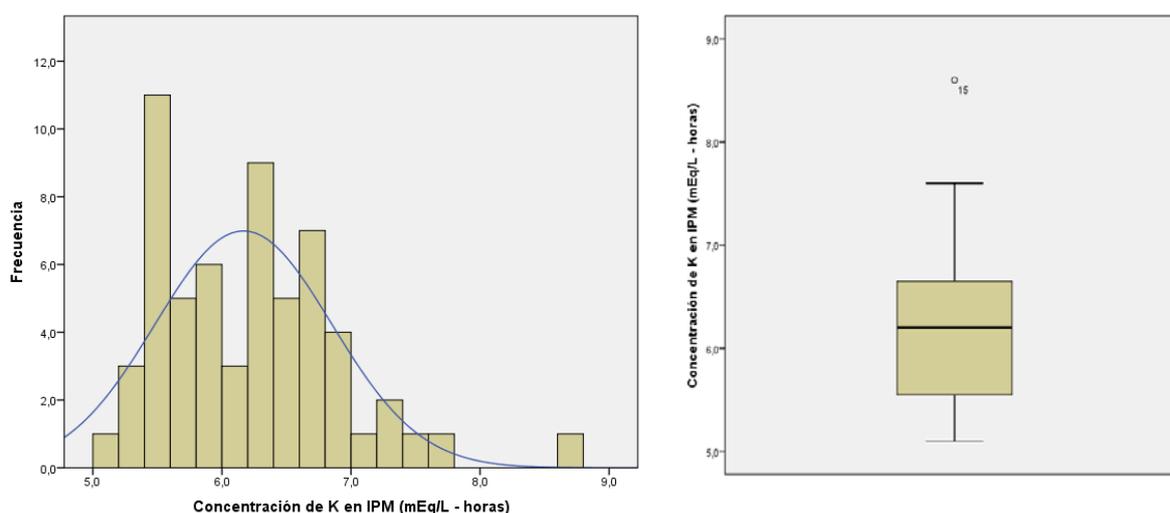
### 2.1.2 Resultados estadísticos y análisis descriptivo:

Se trabajó con 30 animales. Se analizaron 60 ojos totales, el 50% de los mismos eran ojos derechos. No hubo pérdida de ningún ojo para el proyecto.

Las determinaciones de potasio en humor vítreo se realizaron al momento de muerte ( $t=0$ ), a las dos horas ( $t=2$ ), a las 6 horas ( $t=6$ ) y a las 10 horas ( $t=10$ ). No todos los ojos pudieron tener todas las determinaciones temporales, se observó la existencia de un dato perdido en el tiempo  $t=6$  y cuatro datos perdidos Enel tiempo  $t=10$ .

La distribución de frecuencias de todos los horarios en el total de ojos se presenta a continuación mediante histogramas y gráficos de cajas:

#### Hora 0

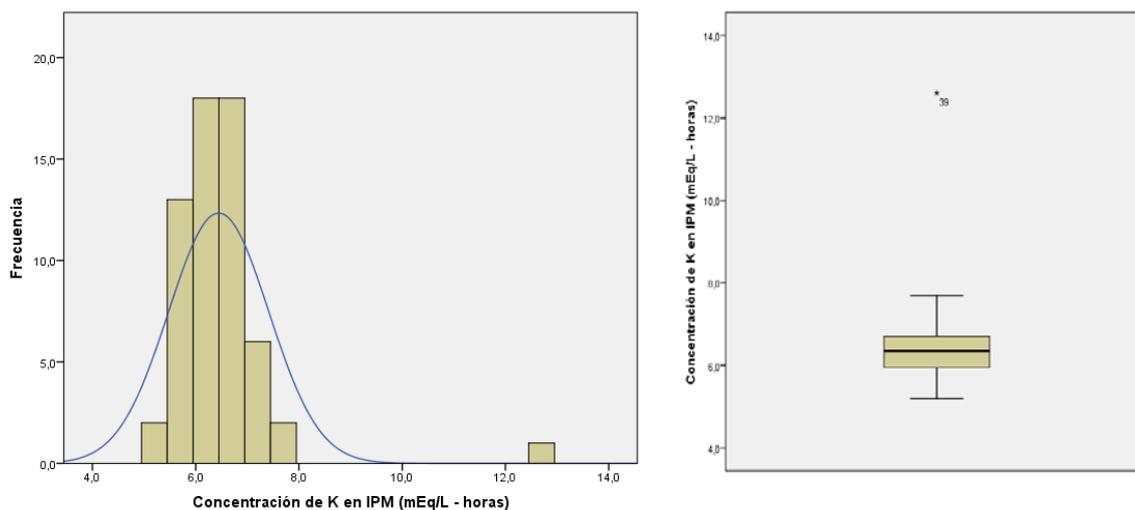


**Figura 1.** Distribución de los datos de concentración de potasio en  $t=0$ .

Fuente: Propia.

En la distribución se observa una asimetría con una mediana corrida hacia la derecha, el intervalo modal se presenta en valores cercanos al límite inferior de medidas. La presencia de un valor extraño (outlier), de valor elevado de concentración de K, es visible en ambos gráficos.

## Hora 2

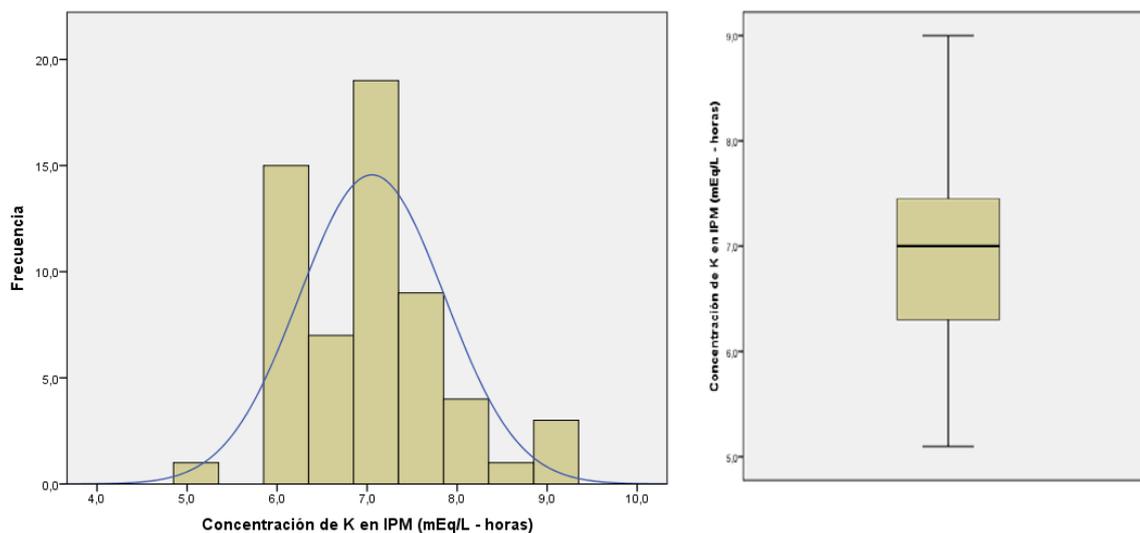


**Figura 2.** Distribución de los datos de concentración de potasio en  $t=2$ .

Fuente: Propia.

En la distribución se observa una simetría con una mediana centrada, la moda se presenta en valores medios de las concentraciones. Un comportamiento leptocúrtico es observado en los datos. La presencia de un valor extraño (outlier), de valor muy elevado de concentración de K, es visible en ambos gráficos.

## Hora 6

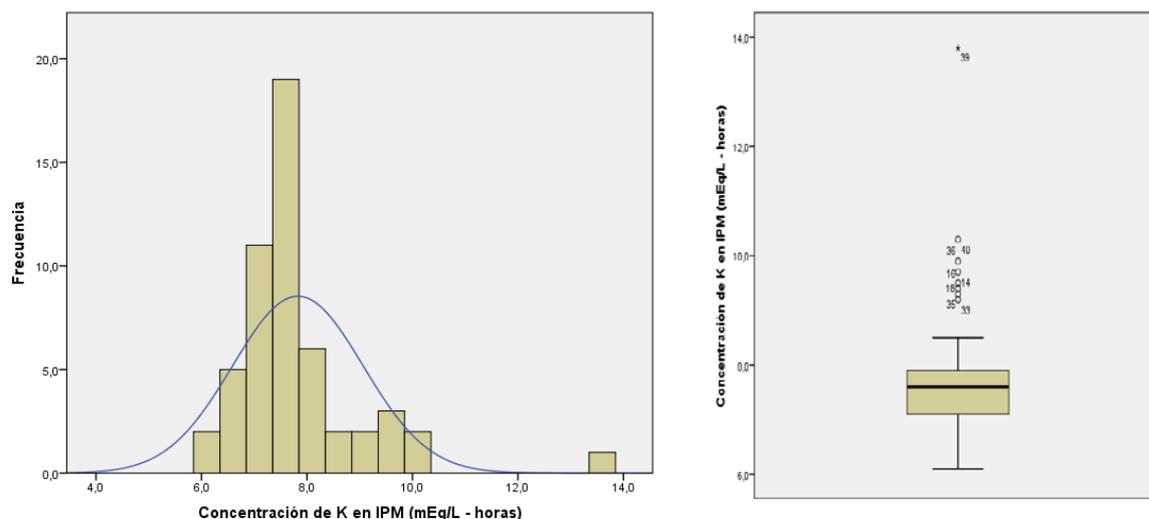


**Figura 3.** Distribución de los datos de concentración de potasio en  $t=6$ .

Fuente: Propia.

En la distribución se observa una asimetría con una mediana corrida hacia los valores mayores, el intervalo modal se presenta en valores medios de las concentraciones. No hay evidencia de la existencia de valores extraños (outlier).

## Hora 10



**Figura 4.** Distribución de los datos de concentración de potasio en t=10.

Fuente: Propia.

En la distribución se observa una asimetría con una mediana corrida hacia la derecha, la moda se presenta en valores medios de las concentraciones. Un comportamiento leptocúrtico es observado en los datos. La presencia de un valor extraño (outlier), de valor muy elevado de concentración de K, es visible en ambos gráficos. El gráfico de cajas muestra una serie de siete outliers de valor elevado.

El contraste de normalidad, mediante la prueba de Kolgomorov - Smirnov, realizado sin la influencia de los outlier extremos mostró un ajuste a la distribución normal de los las determinaciones a t=0, t=2 y t=6 ( $p \geq 0.05$ ). Por otro lado, en el tiempo t=10 los datos no se ajustaron a la distribución normal ( $p < 0.05$ ), sin embargo, por ser un número de casos mayor a 30 y teniendo en cuenta teorema central del límite se asume una distribución normal para dicha hora de determinación.

La tabla con los principales resultados estadísticos descriptivos para cada hora de determinación se presenta a continuación:

**Tabla 1.** Datos estadísticos descriptivos de tendencia central y dispersión para cada horario de determinación de concentración de potasio. Fuente: Propia.

		t=0	t=2	t=6	t=10
Media		6,153	6,341	7,022	7,712
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	5,975	6,200	6,818	7,455
	Límite superior	6,330	6,482	7,227	7,968
Mediana		6,200	6,300	7,000	7,600
Desviación estándar		,6819	,5411	,7769	,9216
Mínimo		5,1	5,2	5,1	6,1
Máximo		7,8	7,7	9,0	10,3
Rango intercuartil		1,1	,8	1,1	,8

En la tabla 1 se puede visualizar que los estadísticos de tendencia central (media y mediana) muestran un incremento conforme avanza el tiempo. Las medidas de dispersión (desvío estándar y rango intercuartil) toman valores de baja magnitud, por lo cual la variabilidad en cada tiempo no es grande pues los coeficientes de variación fueron iguales a menores al 12%.

### 2.1.3. Análisis de independencia entre ojo derecho e izquierdo:

Para conocer si existen diferencias entre los ojos derechos y los ojos izquierdos de cada animal se recurre a un análisis pareado, con la hipótesis de que las dos unidades experimentales de una misma procedencia no presentarían diferencias en el promedio de las determinaciones de concentración.

**Tabla 2.** Comparación de estadísticos de tendencia central para cada horario de determinación de concentración de potasio según ojo analizado.

		n	Media	Desviación estándar	Valor p*
t=0	OJO D	30	6,223	,7463	0,43
	OJO I	30	6,110	,6250	
t=2	OJO D	30	6,540	1,2494	0,35
	OJO I	30	6,350	,5782	
t=6	OJO D	29	7,055	,8192	0,96
	OJO I	29	7,045	,8240	
t=10	OJO D	26	7,785	1,4223	0,71
	OJO I	26	7,881	1,0748	

\* Valor p obtenido de prueba t de muestras dependientes. Valores p mayores a 0,05 son considerados no significativos. Fuente: Propia.

En la Tabla 2 se presenta las comparaciones entre los ojos derechos e izquierdos, con el fin de obtener una conclusión estadística sobre la existencia de diferencias entre los pares de ojos pertenecientes al mismo animal. El análisis pareado, o de muestras relacionadas, realizado mostró para todas las horas de determinación de concentración de potasio no existen diferencias estadísticamente significativas entre los ojos derechos e izquierdos, siendo en todos los casos los valores  $p \geq 0.05$ .

#### 2.1.4. Análisis de diferencias de concentración de potasio en el tiempo:

Continuando con el análisis de diferencias, se evaluó si existían cambios estadísticos en los valores medios de concentración de potasio en las distintas horas de determinación. A continuación, se presentan las comparaciones pareadas para ambos ojos por separado.

**Tabla 3.** Comparación de diferencias de concentración de potasio entre horas de determinación en ojo derecho.

		Diferencia de Media	Desviación estándar de las diferencias	Estadístico t	Valor p*
OD	t=0 – t=2	-,1345	,7242	-1,000	,326
	t=0 – t=6	-,8034	,8757	-4,941	<b>,0001</b>
	t=0 – t=10	-1,2731	,9958	-6,519	<b>,0001</b>
	t=2 – t=6	-,6690	,5953	-6,052	<b>,0001</b>
	t=2 – t=10	-1,1154	,7760	-7,329	<b>,0001</b>
	t=6 – t=10	-,4923	,8328	-3,014	<b>,006</b>

\* Valor p obtenido de prueba t de muestras dependientes. Valores p menores a 0,05 son considerados significativos y marcado con negrita. OD: ojo derecho. Fuente: Propia.

En la tabla 3 se observa que, en el análisis de muestras dependientes, las concentraciones de potasio muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las diferentes horas de medición, salvo en el caso de la hora 0 y la hora 2, donde la diferencia de medias no es significativa ( $p \geq 0,05$ ).

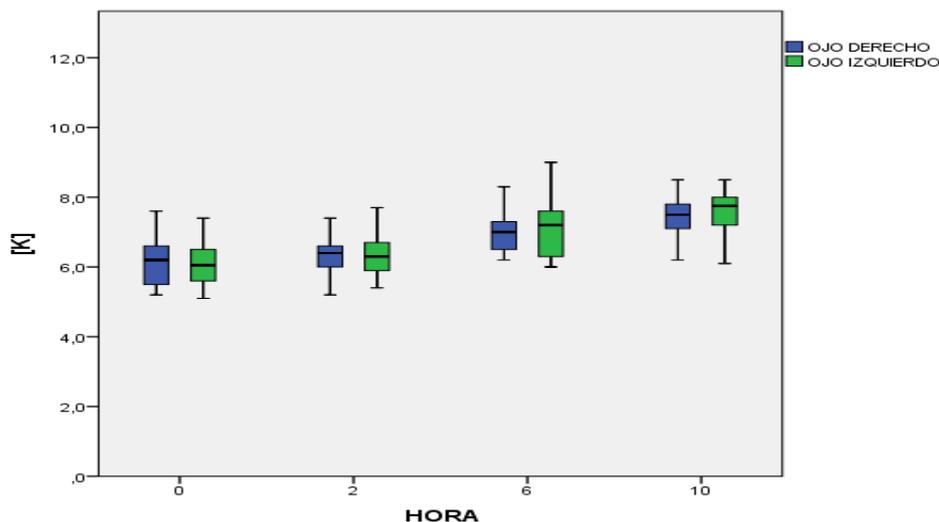
**Tabla 4.** Comparación de diferencias de concentración de potasio entre horas de determinación en ojo izquierdo.

		Diferencia de Media	Desviación estándar de las diferencias	Estadístico t	Valor p*
OI	t=0 – t=2	-,2400	,6866	-1,914	,065
	t=0 – t=6	-,9552	1,0207	-5,039	<b>,0001</b>
	t=0 – t=10	-1,7231	1,1445	-7,677	<b>,0001</b>
	t=2 – t=6	-,7241	,5449	-7,157	<b>,0001</b>
	t=2 – t=10	-1,4808	,8681	-8,698	<b>,0001</b>
	t=6 – t=10	-,7500	,7168	-5,335	<b>,0001</b>

\* Valor p obtenido de prueba t de muestras dependientes. Valores p menores a 0,05 son considerados significativos y marcado con negrita. OI: ojo izquierdo. Fuente: Propia.

En la tabla 4 se observa que, en el análisis de muestras dependientes, las concentraciones de potasio muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las diferentes horas de medición, salvo en el caso de la hora 0 y la hora 2, donde la diferencia de medias no es significativa ( $p \geq 0,05$ ), siendo sin embargo una tendencia.

**Figura 5.** Se pueden observar la tendencia creciente de la concentración de potasio a medida que pasa el tiempo. Por un lado, la comparación entre ojos derechos e izquierdos a la misma hora muestra un gran solapamiento de las cajas, lo cual es compatible con los resultados no significativos presentados en la Tabla 2. Además, observando las cajas que representan a los ojos derechos (cajas azules) y las que representan a los ojos izquierdos (cajas verdes), se puede analizar también el solapamiento de las mismas, pudiendo corroborar la información brindada en la Tabla 3 y la Tabla 4. Fuente: Propia.



**Figura 5.** Diagrama de cajas (boxplot) agrupadas, según ubicación de ojos (derecho-izquierdo), para la visualización del cambio de la concentración de potasio en las distintas horas de determinación.

### 2.1.5. Análisis de correlación entre tiempo y concentración de potasio:

El análisis de correlación lineal de Pearson entre las horas de medición y la concentración de potasio fueron llevadas a cabo para probar la hipótesis de proporcionalidad directa entre dichas variables cuantitativas.

Se presentan las tablas con magnitud y significancia de la correlación lineal para ambos ojos.

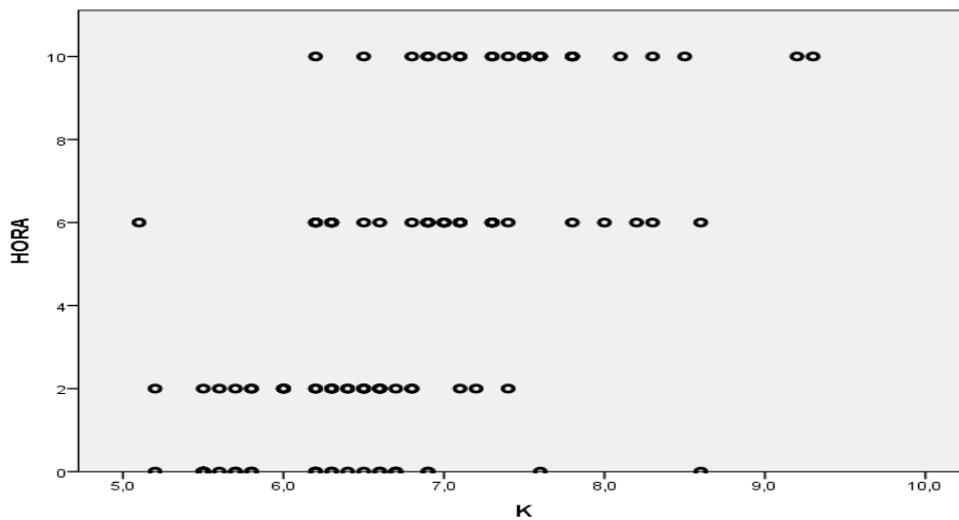
**Tabla 5a.** Correlación lineal entre concentración y hora para ojo derecho. Fuente: Propia.

		HORA
K	Correlación de Pearson	,478**
	Valor p	<b>,0001</b>
	n	117

**Tabla 5b.** Correlación lineal entre concentración y hora para ojo izquierdo. Fuente: Propia.

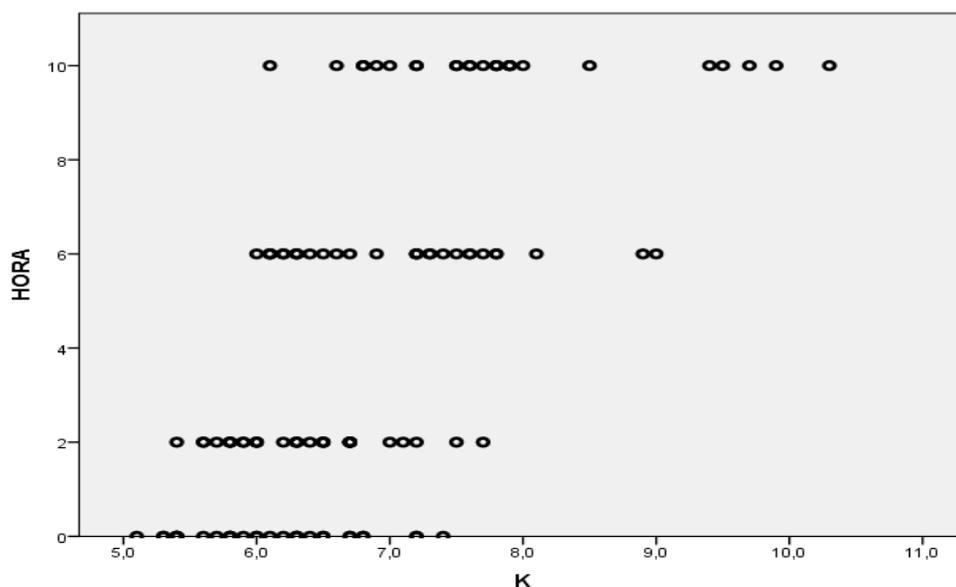
		HORA
K	Correlación de Pearson	,655**
	Valor p	,0001
	n	115

En las tablas 5a y 5 b se puede deducir que existe una correlación positiva entre la concentración de potasio y la hora de medición. En el caso de los ojos derechos la magnitud de la correlación positiva fue de 0,478 y estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Para los ojos izquierdos la magnitud de la correlación positiva fue más alta con un valor de 0,655 y también estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Las figuras 6 y 7 muestran el diagrama de dispersión de cada una de dichas correlaciones.



**Figura 6.** Diagrama de dispersión entre concentración de potasio y horas para ojo derecho.

Fuente Propia.



**Figura 7.** Diagrama de dispersión entre concentración de potasio y horas para ojos izquierdos.

Fuente: Propia.

### 2.1.6 Modelos de regresión entre tiempo y concentración de potasio:

En el siguiente paso tras los análisis de correlación positivos y significativos se ha realizado modelos de regresión lineal que brinden una función predictora. Teniendo en cuenta los resultados de los apartados anteriores se realizaron los modelos de regresión para ojos derechos e izquierdos, sin embargo, se presenta de manera completa a continuación el modelo con mejor ajuste perteneciente a los ojos izquierdos. Luego se expondrá brevemente los resultados principales del modelo sobre ojos derechos y de los ajustes no lineales realizados.

La regresión lineal de sobre los ojos izquierdos presento los siguientes parámetros.

**Tabla 6.** Coeficiente de correlación y ajuste mediante estadístico R2 del modelo de regresión lineal sobre ojos izquierdos. Fuente Propia.

Modelo	r	R cuadrado
OI	,655	,429

**Tabla 7.** Coeficiente de la función lineal construida sobre los datos de ojos izquierdos.

Modelo	Coeficientes no estandarizados	Sig.	intervalo de confianza de 95%	
			Límite inferior	Límite superior
OI Constante	-12,102	,000	-15,670	-8,534
K	2,408	,000	1,890	2,926

De la Tabla 6 se puede observar que el ajuste del modelo lineal es de 0,429, lo cual manifiesta que la concentración de potasio explica un 42,9% de la variabilidad de la hora. Dicho ajuste es interesante por tratarse de un modelo univariado pero está aún lejos del ajuste ideal de 1 (100%).

De la Tabla 7 pueden observarse varios resultados, se encontró que el modelo construido tiene tanto una Constante como una pendiente estadísticamente significativos, lo cual da validez al mismo. Por otro lado, teniendo en cuenta los coeficientes puntuales se obtiene la siguiente función lineal:

$$IPM = 2,41 * [K] - 12,10$$

Al tener en cuenta los intervalos de confianza del 95% se generan dos nuevas funciones lineales. La función generada por los límites inferiores (LI) de los intervalos es la siguiente:

$$IPM = 2,93 * [K] - 15,67$$

La función generada por los límites superiores (LS) de los intervalos es la siguiente:

$$IPM = 1,89 * [K] - 8,53$$

**Figura 8:** se muestra la representación gráfica de los modelos lineales, pudiendo observarse el correspondiente diagrama de dispersión con rectas de ajuste.

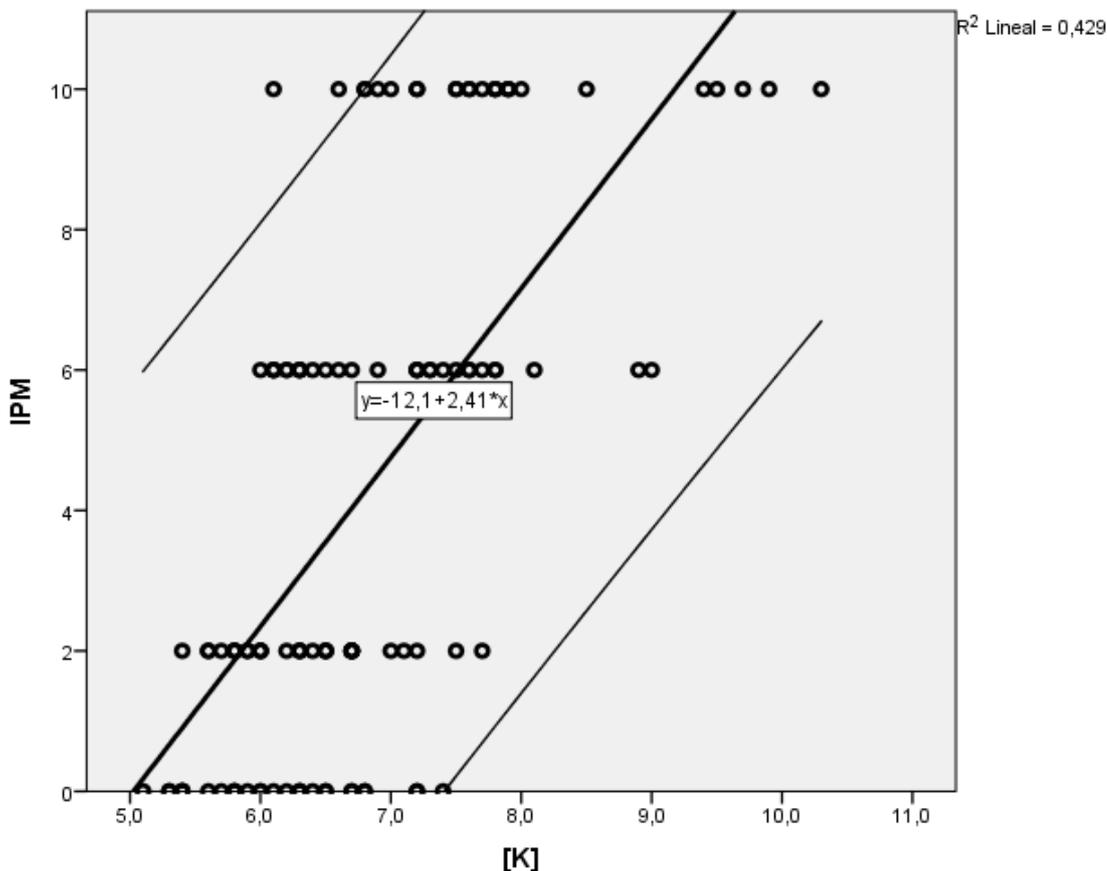


Figura 8. Diagrama de dispersión con recta de ajuste entre concentración de potasio e IPM en ojos izquierdos.

El modelo lineal generado con los ojos derechos presentó un coeficiente de Pearson  $r = 0,618$  y un  $R^2 = 0.382$ , siendo sus estadísticos puntuales constante = 14,027 y pendiente = 2,724. Por otra parte, los modelos no lineales construidos sobre ojos izquierdos presentaron los siguientes valores de ajuste: cuadrático  $R^2 = 0.444$ , cúbico  $R^2 = 0.445$  y logarítmico  $R^2 = 0.440$ ; los cuales fueron ligeramente mejores que el del modelo lineal pero por su mayor complejidad de fórmulas y explicación no justificaron su implementación.



## **CAPÍTULO 3**



## 3.1 Discusión y Conclusión

### 3.1.1 Utilidad del humor vítreo en la evaluación de la causa de muerte:

Determinar el IPM es uno de los desafíos frustrantes que enfrenta la medicina forense, particularmente en situaciones con escasa o limitada información previa a la muerte sobre el occiso. Se ha sugerido que el análisis *post mortem* del humor vítreo exhibe hallazgos característicos para que, a través de su estudio, contribuya al esclarecimiento de la hora de la muerte.

En el presente trabajo y *a posteriori* de los resultados, la determinación de la concentración de potasio en el humor vítreo durante el IPM puede ser un complemento importante para lograr un resultado que se aproxime con mayor grado de certeza, a la hora en que ha ocurrido la muerte.

### 3.1.2 Correlación entre la bioquímica vítrea con el IPM:

El médico forense tiene el compromiso de estimar con precisión el momento de la muerte del individuo. El humor vítreo es un fluido bastante estable en el período *post mortem* que puede utilizarse en las estimaciones del IPM.

En el presente estudio, se ha investigado la variación de la concentración de potasio en humor vítreo bovino durante el intervalo *post mortem* para establecer su correlación con el momento de la muerte. Se observó una relación lineal significativa, en diversos grados, entre el IPM y el potasio.

En el presente estudio, las observaciones se realizaron hasta 10 horas de período *post mortem*, con toma de muestras al momento de la muerte, a las dos horas, a las seis y una última recolección a las diez horas; todas en cada uno de los sesenta ojos de los que se extrajo el humor vítreo.

Durante el período *post mortem* estudiado, el potasio vítreo representó un aumento bastante lineal con el aumento del IPM. Este aumento lineal de potasio vítreo lo consideramos coherente en el IPM. Estos resultados están de acuerdo con los informes anteriores en la literatura sobre el comportamiento del potasio vítreo en el período *post mortem* (Sturner & Gantner, 1964), (Coe, 1972), (Madea et al., 1989), (Mulla, 2005).

### 3.1.3 Diferencias entre ojos:

Se ha considerado en el presente trabajo, que la diferencia de concentración de potasio entre ambos ojos en el mismo par de ojos a un IPM idéntico no son significativas, a través de los estudios que fueron realizados por la mayoría de los investigadores (Sturner & Gantner, 1964), (Coe, 1969).

La técnica de microsampling y electroforesis capilar, confirmaron que no existían diferencias estadísticamente significativas para la concentración de potasio en los dos ojos del mismo individuo (Tagliaro et al., 2001).

Estudios más recientes ratificaron que las muestras vítreas obtenidas del mismo par de ojos, tenían valores bioquímicos casi similares para los dos ojos (Mulla, 2005). Sin embargo, debemos decir que algunos autores sugerían diferencias relevantes entre los ojos para los constituyentes del vítreo, incluido el potasio (Balasooriya, St Hill & Williams, 1984), (Madea et al., 1989).

Aunque no se suministró un análisis estadístico de sus datos, estos autores sugirieron diferencias relevantes (Pounder, Carson, Johnston & Orihara, 1998).

Una justificación para los informes contradictorios sobre las diferencias entre ojos a un IPM idéntico, pueden ser las variaciones en los métodos de estudio y las posibles manipulaciones de muestras antes del análisis. A pesar de ello, se ha informado que las concentraciones de muchos solutos en el humor vítreo son diferentes en las cámaras vítreas anterior y posterior (Bito, 1977).

Otras investigaciones han propuesto que la concentración de solutos vítreos junto a la retina es diferente a la concentración en la porción central del globo, y por lo tanto, es esencial aspirar el humor vítreo lo más completamente posible para reflejar con precisión los niveles de concentración de todos los solutos (Coe, 1969). En el presente estudio se aspiró vítreo central en concordancia con lo expresado por el autor.

De esta manera, se eliminará cualquier discrepancia que pueda surgir como resultado de la aspiración de humor vítreo selectivo de regiones de concentraciones de solutos más altas o más bajas. Aunque la técnica de aspiración completa puede ser ideal para reflejar con precisión los niveles de concentración de potasio vítreo, ciertos otros factores también pueden explicar las diferencias entre los ojos (Mulla, 2005).

La disparidad en los hallazgos, también pueden atribuirse a los métodos de análisis utilizados en diferentes estudios (Coe & Apple, 1985). Cuando fueron analizados mediante potenciometría directa o indirecta los resultados fueron significativamente distintos entre el mismo par de ojos (Balasooriya et al., 1984), (Madea et al., 1989).

En contraste, los estudios que obtuvieron una concentración casi idéntica para varios componentes del humor vítreo, usaron fotometría de llama para sus análisis (Sturner & Gantner, 1964), (Coe, 1969).

La mayoría de los instrumentos analíticos utilizados en diversos estudios fue empleada para un rango clínico de análisis. La dilución compensatoria ha sido esencial para estimar un valor para la determinación de la concentración del potasio del humor vítreo *post mortem*.

Se ha formulado la hipótesis de que la dilución de la muestra antes del análisis tiene en cuenta las diferencias entre ojos en el mismo par de ojos y, por lo tanto, se ha propuesto medir las muestras sin diluir (Pounder et al., 1998).

Aun así, en otros estudios se realizaron diluciones apropiadas y los resultados no sugieren que la dilución compensatoria sea crítica en el análisis bioquímico de la concentración del potasio en el humor vítreo (Mulla, 2005), (Sturner & Gantner, 1964), (Tagliaro et al., 2001).

Otro de los factores mencionados, que pueden influir en las diferentes concentraciones de potasio de un mismo individuo es el relacionado con el tiempo entre la extracción del humor vítreo y el análisis. En el presente estudio, la influencia del almacenamiento de la muestra en los valores bioquímicos del humor vítreo se excluyó mediante análisis bioquímico inmediato de las muestras congeladas previamente. En algunos estudios, la muestra se mantuvo congelada a -70 °C antes del análisis bioquímico (Madea et al., 1989).

El largo lapso entre la recolección de muestras de humor vítreo y el análisis de la muestra, pueden ser un factor adicional que explicaría las diferencias informadas entre ojos en el mismo par de ojos.

Las condiciones de almacenamiento endebles pueden haber influido en los resultados hasta cierto punto y se sospecha que después del almacenamiento indefinido a bajas temperaturas, los resultados pueden no representar con exactitud las concentraciones del potasio en el humor vítreo. Esto puede ser cierto en vista de las recientes observaciones de aumentos pequeños, pero significativos, en las concentraciones de electrolitos vítreos en muestras refrigeradas durante 6 y 12 meses.

En uno de los trabajos realizados por Coe (1969), se destaca que en 20 pacientes a los cuales se les extrajo humor vítreo de cada ojo al mismo tiempo, donde se los analizó por separado y a distintos intervalos de muerte, arribando a la conclusión de que los valores de potasio eran casi idénticos en los dos ojos, a pesar del lapso de días entre la muerte y la extracción de estas muestras.

En el presente estudio las primeras determinaciones se realizaron inmediatamente al momento del sacrificio de cada animal, a diferencia de los trabajos realizados por la mayoría de los investigadores, entre ellos Mulla, Sturner, Tagliaro, Coe y Madea, en los que las muestras de humor vítreo examinadas fueron de cadáveres humanos.

Sin embargo y sobre esta base, se considera que las diferencias entre dos valores de humor vítreo en un mismo individuo a distinto intervalo de muerte expresan los cambios *post mortem*, tal cual lo realizado en el presente trabajo.

Los puntos de vista contradictorios en la literatura sobre el tema parecen ser el resultado de metodologías de estudio no uniformes y manipulaciones de muestras, sin embargo las diferencias son insignificantes y, por lo tanto, la validez del análisis del humor vítreo *post mortem* para aplicarse en patología forense, no puede cuestionarse únicamente sobre la base de estas diferencias.

De todos modos, el presente estudio ha pretendido eliminar la mayoría de las limitaciones metodológicas de las técnicas de muestreo y el análisis bioquímico evidente en algunos estudios previos,

ya que las insignificantes diferencias del potasio vítreo entre ojos, y una correlación emparejada - altamente significativa- respaldada por una correlación lineal similar a niveles idénticos de significancia para los ojos derecho e izquierdo con el IPM, sugieren que el potasio vítreo es un marcador bioquímico valioso en la estimación del IPM, como lo indica Mulla (2005); por lo que, basados en estas premisas, fue procesado estadísticamente el total de ojos de vacunos de los que se han tomado las muestras de humor vítreo para la determinación de la concentración del potasio durante el IPM, buscando minimizar las posibles diferencias interoculares.

#### **3.1.4 Factores que influyen en la concentración de potasio vítreo:**

En el presente estudio, en el que hemos analizado el humor vítreo extraído de los ojos de los bovinos, se ha excluido lo que la mayoría de los autores refieren en el sentido de la influencia de factores sobre la concentración de potasio vítreo.

Es por ello, que el uso de la concentración de potasio vítreo *post mortem* para la estimación del IPM ha sido limitado debido a las diferentes conclusiones alcanzadas por distintos autores, lo que lleva a la falta de uniformidad en sus ecuaciones.

Existen factores que pueden explicar estas marcadas variaciones en el comportamiento del potasio vítreo *post mortem*. Estos factores han sido clasificados recientemente como externos e internos (Coe, 1969). Los factores externos comprenden el muestreo, la instrumentación y la temperatura ambiente a la que el cuerpo estuvo expuesto durante el período *post mortem*.

Muchos expertos han documentado el efecto de la temperatura en el potasio vítreo *post mortem*. Komura y Oshiro (1977) se encontraban entre los primeros que observaron la influencia significativa de la temperatura ambiente sobre la concentración de potasio vítreo.

Descubrieron que los cuerpos expuestos a temperaturas más cálidas tenían mayores tasas de potasio vítreo que los expuestos a temperaturas más bajas. Observaciones semejantes también han sido hechas por Coe (1973), quien advirtió que las temperaturas ambientales elevadas aceleraron el aumento de los niveles de potasio por encima de lo observado a temperatura ambiente.

La influencia de la temperatura sobre la concentración de potasio vítreo *post mortem* también ha sido informada por Schoning y Strafuss (1980), sobre la base de sus observaciones hechas en 60 perros mestizos adultos. Los autores sugirieron que los niveles de potasio aumentaban considerablemente al aumentar las temperaturas, incluso si el tiempo se mantenía constante.

Mulla (2005) refiere que Mc Laughlin y Mc Laughlin (1987; 1988) estudiaron el humor vítreo equino, bovino y porcino, para evaluar la influencia de la temperatura en la bioquímica vítrea *post mortem*.

Los efectos de la temperatura *post mortem* se determinaron mediante la incubación de muestras de 4 °C a 37 °C para intervalos de tiempo variables. Informaron que las concentraciones de potasio vítreo eran generalmente más estables a temperaturas más bajas y aumentaban con el tiempo y la temperatura de incubación de las muestras. Sin embargo, otros investigadores como Jaffe (1962), Adelson, Sunshine, Rushforth y Mankoff (1963), Sturner (1963), Sturner y Gantner (1964) no observaron ningún efecto significativo de la temperatura en los niveles de potasio vítreo *post mortem*.

En el presente trabajo, no se tuvo en cuenta la factibilidad de realizar el estudio de la variación del potasio vítreo según la temperatura ambiente; de todos modos, hemos aceptado lo sugerido por las investigaciones anteriores en la que se hizo referencia de que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el potasio vítreo y la temperatura ambiente, como bien lo detalla Bray (1984) sobre el aumento uniforme de las pendientes *post mortem* de potasio vítreo en todos los rangos de temperatura.

En cuanto a los factores internos que posiblemente influyan en el potasio vítreo *post mortem*, son la edad y el estado metabólico *ante mortem* del individuo. Uno de los trabajos anteriores que se ocupó del tema fue el de Madea et al., (1989) sobre la base de casos de muertes repentinas o después de enfermedades crónicas, en el cual sugirieron límites de confianza del 95 % en el rango de  $\pm$  34 horas hasta 120 horas *post mortem*.

Coe (1972) demostró que la urea es el más estable de los componentes del humor vítreo probados en la autopsia, por lo que se considera un indicador preciso de la retención de urea *ante mortem*. Por lo tanto, cualquier valor alto de urea indica una retención *ante mortem* de urea en lugar de la producción *post mortem*.

Del mismo modo, Sturner (1963) y Adelson et al., (1963) habían sugerido que los valores de potasio vítreo obtenidos de sujetos con enfermedades crónicas eran más erráticos que los obtenidos en individuos que morían por condiciones agudas o traumatismos.

Esta diferencia puede ser el resultado de los desequilibrios electrolíticos *ante mortem* causados por el proceso de enfermedad crónica, y puede explicar los límites mejorados de confianza del 95 % cuando Madea et al., (1989) eliminaron los casos con un nivel de urea  $>$  100 mg / dL en su estudio.

Dado que la urea desempeña un papel central en el metabolismo electrolítico, un metabolismo alterado de la urea puede ser evidente en las enfermedades crónicas (Mulla, 2005).

En lo referente al factor edad, Crowell y Duncan (1974) anunciaron una observación atrayente de su estudio y propusieron una influencia significativa de la edad en la bioquímica vítrea *post mortem*, ya que estudiaron el humor vítreo de los perros y observaron una mayor variación de potasio en el grupo de menor edad que en los perros mayores.

Los autores interpretaron que la variación podría deberse al globo ocular más pequeño de perros más jóvenes. Blumenfeld, Mantell, Catherman y Blanc (1979) y Mason, Harkness, Elton y Bartholomew (1980) sugirieron que la pendiente de regresión es más pronunciada en los niños que en los adultos, cuando las concentraciones de potasio vítreo *post mortem* están influenciadas por la edad. Esto se puede atribuir al diámetro del globo ocular que es más pequeño en los bebés que en los adultos.

Madea et al., (1989) explicaron que los gradientes de concentración que existen en el ojo humano ayudaron a la difusión de diversos componentes bioquímicos desde la retina hasta el humor vítreo en el período *post mortem*. Por su parte Larsen (1971) estudió el diámetro y la longitud del humor vítreo en diferentes grupos de edad y fue revisado con gran detalle por otros investigadores.

Es indudable que el diámetro del ojo, que representa la distancia de difusión, es menor en los niños que en los adultos y, en consecuencia, los componentes *post mortem* son más altos en los niños debido a un diámetro del globo más pequeño, según la ley de difusión de Ficks. Es por esta razón que las fórmulas utilizadas en la predicción de IPM para adultos pueden no ser adecuadas para su uso en niños.

Otros factores fueron estudiados, como ser el alcohol y el peso. Madea et al., (1989) sugirieron que el alcohol podría influir en la osmolalidad *post mortem* del fluido vítreo y, por lo tanto, intervenir en las concentraciones de electrolitos vítreos.

Crowell y Duncan (1974) basados en su estudio sobre perros sugirieron que el peso reflejaba indirectamente la edad del perro, y podría influir en las concentraciones de potasio en el humor vítreo *post mortem*. Además, el sexo, el peso corporal y el período agónico, fueron estudiados y los resultados arrojaron que no se encontró influencia significativa. La causa de muerte es algunas veces sugerida como influyente de las concentraciones *post mortem*, sin embargo, estudios realizados por Zilg (2015) han determinado que la causa de la muerte no parece afectar el incremento de los niveles de potasio *post mortem*.

En el presente trabajo no fueron evaluados los factores antes detallados por lo que podría ser interesante, en futuras investigaciones, continuar evaluando su incidencia -o no- en la concentración de potasio en el humor vítreo durante el IPM.

### **3.1.5 Pendiente y ecuación de regresión:**

La pendiente y las intersecciones observadas para el potasio vítreo en el presente estudio son comparables a las informadas para el aumento del potasio vítreo en la literatura. La variación en los métodos experimentales y las características de la muestra pueden explicar las pequeñas diferencias observadas con las pendientes de varios otros estudios.

En el presente trabajo, la pendiente de la línea de regresión lineal para el aumento de potasio vítreo *post mortem* fue de 0,16 mEq/L por hora. Los rangos relacionados con las pendientes de la línea de

regresión lineal, las intercepciones de hora cero reportadas y la pendiente vítrea del potasio fueron aportados como datos en el estudio realizado por Mulla (2005), quien detalló que son variables y en el rango de 0,14 mmol / L por hora (Sturner, 1963) a 0,332 mmol / L por hora (Coe, 1969).

De manera similar, las intercepciones de hora cero reportadas en la literatura varían de 4.2 mmol / L (James et al., 1997) a 8.0 mmol / L, según lo informado por Hansson, Uotila, Lindfors y Laiho (1966).

La pendiente vítrea de potasio informada por Sturner (1963) basada en los datos de su estudio, se correspondió con una intersección aproximada de cero horas de 5,6 mmol / L. Coe (1969) obtuvo una pendiente bifásica, una pendiente de 0.332 mmol / L por hora en las primeras seis horas de IPM y una más plana de 0.16 mmol / L por hora en las últimas horas con intercepciones de hora cero de 4.99 y 6.19 mmol / L, respectivamente.

El estudio de Madea et al., (1989) reportó una pendiente de 0.19 mmol / L por hora y una intersección en hora cero 'y' de 5.88 mmol / L. James et al., (1997) a partir de sus datos sobre potasio vítreo obtuvieron una pendiente de 0.23 mmol / L por hora con una intersección en hora cero de 4.2 mmol / L. Mulla (2005) obtuvo como resultado de la pendiente de la línea de regresión para potasio vítreo *post mortem* que aumentó al incrementarse el IPM en 0.16 mmol / L por hora con una intersección de hora cero en 'y' de 7.22 mmol / L.

En el presente trabajo, cuyo resultado es que la pendiente está en el orden de los 0,16 mEq/L, siendo coincidente con los resultados de Mulla (2005), quien opinó que la pendiente de 0.16 mmol / L es más pronunciada que la reportada anteriormente por Sturner (1963) y ligeramente más plana que la reportada por Madea et al., (1989), autores de dos estudios populares que han ideado fórmulas para la estimación del IPM basadas en estas pendientes de regresión.

La pendiente de regresión para el potasio obtenida en el presente estudio concuerda estrechamente con la pendiente de 0,17 mmol / l por hora obtenida en una evaluación combinada de los datos originales para el potasio de otros estudios (Lange et al., 1994).

El presente estudio concuerda con las deducciones mencionadas en otras investigaciones, tales como lo referido por Mulla (2005) en donde se plantea que lo esencial de la pendiente de la línea de regresión sea relativamente más pronunciada porque las pendientes más planas tienden a sobrestimar el tiempo desde la muerte en función de la línea y ecuación de regresión obtenida.

Atento a estos conceptos, se ha tomado muestras de humor vítreo durante las primeras horas posteriores a la muerte, basados en los trabajos de Coe (1969) en los que observó un aumento de la concentración del potasio en el humor vítreo más rápida durante las primeras pocas horas después de la muerte, por lo que la pendiente resultante fue más pronunciada.

Sin embargo Kulkarni, Chavan y Jadhao (2016) realizan un trabajo comparativo del IPM a partir de la concentración de potasio en el humor vítreo, con el estimado por autopsia, basado en los cambios físicos, arribando a la conclusión que los cambios físicos son más útiles hasta 12 horas de muerte con buen grado de precisión.

Todas las ecuaciones previas se basan en la aproximación sobre la difusión del potasio desde las células circundante al humor vítreo, siguiendo un modelo lineal.

Esto podría ser razonable durante un cierto período de tiempo luego de la muerte, pero no es apropiado en la fase temprana y particularmente en el IPM tardío, donde el potasio vítreo podría ser el medio más importante para estimar el IPM. Lo más probable es que la curva de difusión muestre un forma de S, que puede desplazarse hacia la derecha o hacia la izquierda y mostrar diferentes pendientes dependiendo de varios factores influyentes (Zilg, 2015).

En sus trabajos, Zilg, (2015) arriba a una conclusión interesante: el aumento *post mortem* del potasio vítreo no es lineal; y la edad del fallecido y la temperatura ambiente influyen significativamente este incremento.

### 3.1.6 Fórmula de regresión:

Con base en la ecuación de regresión obtenida a partir de los datos de este estudio, se propone una nueva fórmula.

La ventaja de esta fórmula sobre algunas otras fórmulas propuestas anteriormente, es que al tratarse de humor vítreo extraído de ojos de bovinos inmediatamente ocurrida la muerte, nos permitió analizar la concentración de potasio en el tiempo cero, a diferencia de los estudios en cadáveres realizados por otros, en donde la hora de muerte se obtuvo a través de documentos o testimonios de personas, por lo que la fórmula obtenida ha eliminado esta limitación metodológica que son evidentes en algunos estudios previos (Sturner, 1963), (Madea et al., 1989), (James et al., 1997).

En este estudio, el rango de IPM utilizado para derivar la ecuación de regresión fue de 0 a 10 horas.

El escaso rango de IPM utilizado en el estudio ha explicado adecuadamente que durante las primeras horas posteriores a la muerte, el potasio vítreo se comporta en forma inestable, de tal manera que sostenerse en esta única evidencia para determinar el IPM no surge como recomendable, en base a los resultados obtenidos en esta investigación.

Sin embargo, hemos arribado a un nivel de confianza del 95 % para el límite horario de las primeras diez horas.

Muchos de los estudios no analizaron la muestra inmediatamente después de la extracción, que a su vez puede influir en las mediciones bioquímicas vítreas. En el presente estudio, las técnicas de muestreo rigurosas que evitan cualquier contaminación tisular, y el análisis inmediato del fluido vítreo después de la extracción pueden haber determinado muchas de las variabilidades de muestreo asociadas con algunos estudios previos, tal cual como lo detalla Mulla (2005).

### 3.1.7 Conclusiones:

Los principales objetivos del estudio estuvieron centrados en establecer la concentración de potasio en el humor vítreo para la determinación del intervalo *post mortem* valorar la utilidad de la bioquímica del humor vítreo para la medicina forense.

Los resultados conducen a las siguientes conclusiones:

1. La concentración del potasio en el humor vítreo de ojos de bovinos, varía desde un período *ante mortem* hasta diez horas de evolución *post mortem* en ambos ojos.
2. No se han hallado diferencias significativas de la concentración del potasio en el humor vítreo de bovinos entre ambos ojos.
3. Logramos una fórmula de cálculo para la estimación del IPM a partir de la medición del potasio vítreo.
4. Los límites del intervalo de confianza del 95 % para la estimación del IPM basada en la fórmula propuesta se encuentran entre  $\pm 3,8$  horas.
5. Se confirmó el papel complementario del potasio vítreo para la estimación del IPM.

Los hallazgos de este estudio respaldan el papel central de la bioquímica del humor vítreo; específicamente, la concentración de potasio para la determinación del IPM, con el fin de contribuir a las evaluaciones forenses *post mortem* que se requieren desde la Justicia.

Sin embargo, la determinación de la concentración de potasio en el humor vítreo *post mortem* está limitada debido a la disparidad en los resultados de los distintos trabajos publicados y la falta de uniformidad en las ecuaciones propuestas. Lo cual, nos permite deducir que se necesitan más investigaciones para poder superar las dificultades.

## **Bibliografía:**

Achaval, A., (1993). *Manual de Medicina Legal*. Buenos Aires. Argentina. Abeledo-Perrot.

Adelson, L., Sunshine, I., Rushforth, N.B., y Mankoff, M., (1963). Vitreous potassium concentration as an indicator of the postmortem interval. *J Forensic Sci*, 54, 503-14.

Alby, J.C., (2015). *La medicina filosófica del Cristianismo antiguo*. Santa Fe, Argentina: Universidad Católica Santa Fe.

Ariès, P., (1984). *El hombre ante la muerte*. Madrid. España: Taurus Ediciones.

Arroyo, A., Carbone, M.T., y Ordoñez, J., (2004). Bioquímica post mortem: comparación de tres métodos de análisis. *Cuadernos de Medicina Forense*, 36, 35-40.

Balasoorya, B.A., St Hill, C.A., y Williams, A.R., (1984). The biochemistry of vitreous humour. A comparative study of the potassium, sodium and urate concentrations in the eyes at identical time intervals after death. *Forensic Sci*, 26, 85-91.

Bito, L.Z., (1977). The physiology and pathophysiology of intraocular fluids. *Exp Eye Res*, 25 Suppl, 273-89.

Blumenfeld, T.A., Mantell, C.H., Catherman, R.L., y Blanc, W.A., (1979). Postmortem vitreous humor chemistry in sudden infant death syndrome and in other causes of death in childhood. *Am J Clin Pathol*, 71, 219-23.

Botta, R., (2015). *FisicaNet: la aplicación de la química analítica y la electromedicina en la determinación del intervalo post mortem*. Artículo Recuperado de: [https://www.fisicanet.com.ar/quimica/bioquimica/ap21\\_la\\_quimica\\_analitica\\_y\\_la\\_electromedicina.php](https://www.fisicanet.com.ar/quimica/bioquimica/ap21_la_quimica_analitica_y_la_electromedicina.php).

Bray, M., (1984). The effect of chilling, freezing, and rewarming on the postmortem chemistry of vitreous humor. *J Forensic Sci*, 29,404-11.

Coe, J.I., (1969). Postmortem chemistries on human vitreous humor. *Am J Clin Pathol*, 51, 741-50.

Coe, J.I., (1972). Use of chemical determinations on vitreous humour in forensic pathology. *J Forensic Sci*, 17, 541-6.

Coe, J.I., (1973). Some further thoughts and observations on postmortem chemistries. *The Forensic Science Gazette*, 5, 2-6.

Coe, J.I., y Apple, F.S., (1985). Variations in vitreous humor chemical values as a result of instrumentation. *J Forensic Sci*, 30, 828-35.

- Crowell, W.A., y Duncan, J.R., (1974). Potassium concentration in the vitreous humor as an indicator of the postmortem interval in dogs. *Am J Vet*, 35, 301-2.
- Espert, A.N., (2004). Aproximación a la historia de las autopsias. *Revista Electrónica de Autopsias. Universidad Rey Juan Carlos*, vol., 2 n° 1.
- Gisbert Calabuig, J.A., (1992). *Medicina Legal y Toxicología*. Barcelona. España. Masson-Salvat Medicina.
- Hansson, L., Uotila, U., Lindfors, R., y Laiho, K., (1966). Potassium content of the vitreous body as an aid in determining the time of death. *J Forensic Sci*, 11, 390-4.
- Jaffe, F.A., (1962). Chemical Postmortem changes in the intraocular fluid. *J Forensic Sci*, 7, 231-237.
- James, R.A., Hoadley, P.A., y Sampson, B.G., (1997). Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour. *Am J Forensic Med Pathol*, 18, 158-62.
- Komura, S., y Oshiro, S., (1977). Potassium levels in the aqueous and vitreous humor after death. *Tohoku J Exp Med*, 122, 159-74.
- Kulkarni, C.S., Chavan, G.S., y Jadhao, A.N., (2016). Medicolegal study of determination of time since death from potassium level in vitreous humour. *International Journal of Advances in Medicine*, 3, 1059-1064.
- Lange, N., Swearer, S., y Sturner, W.Q., (1994). Human postmortem interval estimation from vitreous potassium: an analysis of original data from six different studies. *Forensic Sci*, 66, 159-74.
- Larse, J.S., (1971) The sagittal growth of the eye. 3. Ultrasonic measurement of the posterior segment (axial length of the vitreous) from birth to puberty. *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 49, 441-53.
- De la Garza-Villaseñor, J., y Pantoja-Millan. J.P., (2008). La España peninsular, la nueva España y la autopsia de una malformación. *Revista de Investigaciones Clínicas del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición*, 60(3), 263-272.
- Madea, B., Henssge, C., Honig W., y Gerbracht, A., (1989). References for determining the time of death by potassium in vitreous humor. *Forensic Sci*, 40, 231-43.
- Mason, J.K., Harkness, R.A., Elton, R.A., y Bartholomew, S., (1980). Cot deaths in Edinburgh: infant feeding and socioeconomic factors. *J Epidemiol Community Health*, 34, 35-41.
- Mc Laughlin, P.S., y Mc Laughlin, B.G., (1987). Chemical analysis of bovine and porcine vitreous humors: correlation of normal values with serum chemical values and changes with time and temperature. *Am J Vet Res*, 48, 467-73.

Montefusco-Pereira, C.V., y de Matos Alves Pinto, L., (2016). El humor vítreo fluido biológico de importancia clínica en ciencias forenses. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 50(1), 27-35.

Mulla, A., (2005). *Role of vitreous humor biochemistry in forensic pathology*. Artículo Recuperado de: <https://harvest.usask.ca/handle/10388/etd-08032005-104652>.

Muñoz Barus, J.I., Suarez-Penaranda, J., Otero, X.L., Rodriguez-Calvo, M.S., Costas, E., Miguens, X., y Concheiro L., (2002). Improved estimation of postmortem interval based on differential behaviour of vitreous potassium and hypoxanthine in death by hanging. *Forensic Sci Int*, 125, 67-74.

Oyarzo Gallardo, M.G., (2013). *Determinación potenciométrica de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl en humor vítreo para la determinación del intervalo post mortem en fallecidos pericidados en servicio médico legal de Temuco durante el año 2012*. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile.

Pounder, D.J., Carson, D.O., Johnston, K., y Orihara, I., (1998). Electrolyte concentration difference between left and right vitreous humour samples. *J Forensic Science*, 43, 604-607.

Schoning, P., y Strafuss, A.C., (1980). Postmortem biochemical changes in canine vitreous humor. *J Forensic Sci*, 25, 53-9.

Soka Gakkai, (2008). (2008). *Los escritos de Nichiren Daishonin, Tokio*, 226. Artículo Recuperado de: <https://www.daisakuikedada.org/es/filosofo-la-muerte-da-mayor-significado-a-la-vida.html>

Sturmer, W.Q., (1963). The vitreous humour: postmortem potassium changes. *Lancet*, 1, 807-8.

Sturmer, W.Q., y Gantner, G.E. Jr., (1964). The postmortem interval. A study of potassium in the vitreous humor. *Am J Clin Pathol*, 42, 137-44.

Tagliaro, F., Bortolotti, F., Manetto, G., Cittadini, F., Pascali, V.L., y Marigo, M., (2001). Potassium concentration differences in the vitreous humour from the two eyes revisited by microanalysis with capillary electrophoresis. *J Chromatogr.* 924, 493-8.

Toledo, W., (2013). *Protocolo de Metabolismo del Potasio – Hiperkalemia*. Artículo Recuperado de: <http://www.colmedsa.com.ar/files/Metabolismo-del-Potasio---Hiperkalemia.pdf>.

Vargas Alvarado, E., (1996). *Medicina Legal*. México D.F. México. Trillas.

Vazquez Fanego, H.O., (2003). *Investigación medicolegal de la muerte*. Buenos Aires. Argentina.

Astrea.Zilg, B., (2015). *Postmortem analyses of vitreous fluid*. Artículo Recuperado de: <https://core.ac.uk/download/pdf/70343724.pdf>.