

REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE GRANADA

HACIA UNA NUEVA FRONTERA EN
LA INVESTIGACION MEDICO LEGAL:
LA TANATOQUIMIA

DISCURSO LEIDO EL DIA 23 DE ABRIL DE 1983
EN EL ACTO DE RECEPCION PUBLICA POR EL

Prof. Dr. ENRIQUE VILLANUEVA CAÑADAS

Y CONTESTACION POR EL

Ilmo. Sr. Dr. D. JUAN ANTONIO GISBERT CALABUIG



GRANADA

DISCURSO DEL

PROF. DR. ENRIQUE VILLANUEVA CAÑADAS

HACIA UNA NUEVA FRONTERA EN LA INVESTIGACION
MEDICO LEGAL: LA TANATOQUIMIA

Excmo. Sr. Presidente.

Excmos. e Ilmos. Sres.

Ilmos. Sres. Académicos.

Señoras y Señores.

Cuando un Profesor sube a la tarima para cumplir con su obligación docente, por cotidiana que esta sea, siempre le asalta la zozobra de no estar a la altura de las circunstancias, es decir, de no dar cumplida respuesta a la expectativa que el auditorio se haya podido formular. Zozobra que se torna en temor cuando el acto académico reviste, como el de hoy, especial solemnidad y relevancia. Desde el instante en que la Presidencia de la Academia me comunicó el alto honor que se me confería al elegirme para protagonizar este acto, supe que yo no podría, aún poniendo en ello todo mi empeño, salir airoso de esta situación. Apelo pues a la generosidad e indulgencia de esta Corporación para que sepa ver en mi escrito y mis palabras el fruto de mi mejor voluntad.

Al llegar el momento solemne de mi ingreso en esta Real Academia, que por deseo expreso de su Presidente, el Profesor GUIRAO PEREZ, se ha hecho coincidir con la inauguración de este espléndido salón, embarga mi ánimo un profundo estado emotivo, lleno de vivencias diversas, jubilosas unas, tristes otras, pero sobre todo preñadas de gratitud hacia todos aquellos que hicieron posible este momento. En primer lugar a mis padrinos en este acto, los Ilmos. Sres. Prof. GUIRAO PEREZ, maestro y amigo, y al Dr. GALLEGO BURIN, que tanto cariño demostró siempre hacia mi persona, quizás avalado por el más antiguo y fraternal que le unió a mi padre en aquellos ya lejanos tiempos en que ambos compartieron las aulas en la vieja Facultad de San Juan de Dios.

En segundo lugar a todos y cada uno de los Ilustres Académicos, que tan generosamente quisieron acogerme en su muy Docta e Ilustre Corporación, dándome un testimonio más de afecto y confianza.

En tercer lugar a la Facultad de Medicina que de este modo me da lo último que ya podría ofrecerme. Academia y Facultad no son la misma cosa, pero desde su nacimiento están unidas y bajo la dirección de su Presidente perpetuo, el Prof. GUIRAO GEA, se acercaron tanto que llegaron a identificarse. No en vano, la mayoría de sus sillones son ocupados por Profesores de este Centro, todos ellos maestros míos.

La deuda de gratitud que tengo contraída con la Facultad, se acrecenta hoy con esta nueva que aún me vincula más, si ello fuese posible, a esta casa, en la que ya he pasado el 60% de mi vida, recorriendo todos los escalones hasta alcanzar hoy la cima de esta Academia.

Al repasar mi curriculum he podido ver cuán modestos e imprecisos son mis méritos. Siempre es difícil deslindar en una labor científica de equipo, a quien corresponde en plenitud los logros, pero en mi caso lo veo con claridad. Durante una dilatada época me nutrí de la sabiduría de mi maestro y ahora vivo de la laboriosidad y competencia de mis discípulos. Esa quizás sea mi mayor alegría, el conjugar aquí a mis maestros con mis discípulos en un continuo fecundo de buen hacer universitario. A todos ellos mi gratitud, aunque en esta sociedad de bienes proindiviso, todos participamos y mis éxitos son también suyos.

Antes de pasar al reglamentario discurso de recepción permítame que cumpla con dos deudas contraídas y un deber protocolario.

Las deudas son con mi familia directa, mi madre, ya definitivamente ausente de mi vida, que como la Facultad, me lo dio todo y se marchó antes de poder recibir nada, a mi padre, ejemplo

permanente de trabajo y honradez, a mi mujer, certera consejera y fiel colaboradora, ellos propiciaron siempre el clima necesario para que pudiera realizar mi tarea con sosiego y tranquilidad.

Queda por último cumplir con el deber reglamentario de glorificar la personalidad de mi antecesor en el sillón de la Academia al que me destinaís. Deber que en este caso tiene una especial relevancia por tratarse de una de las personas que más ha influido en mi vida y con la que, por las especiales cualidades de su generoso corazón, me unen lazos tan entrañables que sobrepasan los planos de la relación maestro-alumno, para adentrarse muy profundamente en el plano personal. El ha querido estar hoy aquí, como estuvo siempre en los momentos importantes de mi vida, de ahí que yo le ofrezca este acto como testimonio de mi gratitud y amistad. El ha sido para mí el maestro, en toda la dimensión de esa hermosa palabra y quiero hoy sentirme su discípulo.

Me refiero, bien lo saben todos, al ltmo. Sr. Prof. D. Juan Antonio GISBERT CALABUIG. Quiero tomar sus propias palabras, porque son insuperables, para referir mi situación de dependencia respecto a él. Maestro de mis años juveniles, mentor en mi trayectoria universitaria, testigo de mi matrimonio, juez en todas mis oposiciones, desde las de alumno interno a las de catedrático, pasando por las de adjunto, antecesor en mi actual destino universitario, y como último lazo, también, antecesor en el sillón de Académico.

Difícilmente puedo ser objetivo al enjuiciar su personalidad, sus méritos científicos y su labor como Académico. Ello sería supérfluo en cualquier lugar, pero mucho más aquí, en Granada, donde dejó lo mejor de sí en los luengos años en que estuvo con nosotros.

El Prof. GISBERT ha sido calificado, por LOPEZ PIÑERO, como un *medicus valentinus*, símbolo del esplendor de los médicos valencianos. El, evidentemente, es valenciano de nacimiento, se formó como Médico Legista en Valencia, pero se hizo Profesor

y Maestro en Granada, ciudad a la que quiere y admira tanto como a su ciudad natal.

En la trayectoria del Maestro, yo resaltaría tres hitos fundamentales. El primero, la publicación de su Tratado, *Medicina Legal y Práctica Forense*, que luego dio origen al *Tratado de Medicina Legal*, en colaboración con su Maestro, el Prof. LOPEZ-GOMEZ, en tres volúmenes que vio tres ediciones: 1962; 1967 y 1970, y, finalmente, su obra más compendiada, *Medicina Legal y Toxicología* (1977), edición ya agotada. El impacto de esta obra en el mundo médico fue importantísimo y constituyó el punto de arranque de la Medicina Legal actual.

El segundo, su presencia en los Congresos Internacionales de Medicina Legal. Fue el primero en airear nuestra ciencia fuera de las fronteras y en el Congreso de Montpellier le fue confiada la Ponencia Oficial sobre Traumatismos cardíacos. A partir de este momento su prestigio Nacional e Internacional alcanzó cotas importantísimas que han culminado en su Doctorado Honoris Causa, por la Universidad de Montpellier, Presidente de la Sociedad Mediterránea de Medicina Legal, y la Cruz de Honor de San Raimundo de Peñafort.

El tercero, el haber ejercido su magisterio con autoridad, ecuanimidad y mesura.

Figura indiscutible de la Medicina Legal Española, ha sabido aprovechar su posición de privilegio, para desde ella, reconciliar, impulsar y modernizar la Medicina Legal. Hoy son legión los que se consideran sus discípulos, por el solo hecho de haber estudiado su libro, ser alumnos de sus alumnos o haberlo tenido de juez en unas oposiciones.

El Prof. GISBERT ha sido un universitario ejemplar, con una vocación de servicio insaciable y una hombría de bien irrepetible. Durante sus doce años de Profesor en Granada dejó bien patente, cuanto digo. Director del Colegio Isabel La Católica, Secretario de

la Facultad y Vicedecano, Fundador de la Residencia de Graduados, del Colegio Mayor San Jerónimo, Creador del Instituto Anatómico Forense, Creador del Departamento de Medicina Legal, de la Escuela Profesional de Medicina del Trabajo, impulsor de la dotación de la Cátedra de Historia de la Medicina y colaborador permanente de todos los centros universitarios y culturales. Pocos podrán decir como él, que cual director de orquesta, fue obligado a visar una conferencia en el Centro Artístico. He de concluir, hablar de la persona con la que se ha convivido tanto tiempo, con la que he firmado más de treinta trabajos científicos, con la que he paseado por el mundo el prestigio de nuestra Disciplina, llevaría un tiempo del que ahora no dispongo, ni tampoco quiero cargar la tinta emotiva, que pudiera resentir su noble corazón. Sólo decirle, de nuevo en casa. Bien venido, Maestro.

Siempre resulta difícil elegir el tema objeto del discurso de ingreso, pero en el presente caso la opción ha sido fácil. He querido exponer aquí un tema sobre el que hemos trabajado en los últimos diez años y que por tanto constituye mi pequeña aportación al dominio de la Medicina Legal, la Tanatoquímica.

HACIA UNA NUEVA FRONTERA EN LA INVESTIGACION MEDICO LEGAL: LA TANATOQUIMIA

INTRODUCCION:

Vivimos en las últimas décadas una época de ondas preocupaciones epistemológicas. Preocupa a los científicos, no sólo definir con precisión y claridad el objeto de sus conocimientos y el de las ciencias que cultivan, sino también el establecer conexiones con otras ciencias afines. A partir de KANT, se inicia la división entre filósofos y científicos. La filosofía pierde la dirección de la ciencia, a medida que ésta se divide cada vez más propulsada por un enorme desarrollo tecnológico. De esta suerte, la mayoría de los científicos tratan de resolver sus problemas de orden gnoseológico dentro de los límites de su propia disciplina, con un absoluto divorcio de las concepciones filosóficas. La solución a los problemas científicos se abordan, más que desde la perspectiva de una teoría del conocimiento, desde la metodología científica general. Las cuestiones epistemológicas se enfocan a partir de la metodología de las ciencias empíricas. Así, DIRAC, ya en 1930, decía que el único objeto del conocimiento para el físico es un conjunto de resultados que pueden ser confrontados con la experimentación. Perdido el carácter unificador de la Filosofía, las ciencias que no fueron capaces de poner en marcha una sólida metodología experimental, quedaron desorientadas al perder el punto de referencia que les daba cohesión, a la vez, que les permitía a cada disciplina conservar y ordenar sus propios valores.

Una de las disciplinas que no supo adecuarse a esta nueva situación fue la Medicina Legal, de ahí la profunda crisis en la que se ha visto sumida y de la que pugna por salir.

La Medicina Legal se desarrolló siempre guiada por la directriz judicial; los jueces recurrían a los médicos en busca de consejo cuando sus propios conocimientos no eran suficientes para resolver el litigio en cuestión. La Medicina Legal existe pues, desde el nacimiento del propio derecho, si bien no obtiene carta de titularidad hasta que ese acto, discrecional del juez hasta entonces, se regula legalmente. Ello aconteció al promulgarse la «Constitutio Criminalis Carolina» por la Dieta de Ratisbona en 1532, a instancia de nuestro Emperador Carlos V. En ella, se fijan ciertos elementos para la comprobación del delito y entre los mismos, la intervención de los médicos, cirujanos y matronas, según los casos: procesos por lesiones, homicidios, suicidios de enfermos mentales, partos clandestinos, abortos, infanticidios, envenenamientos, errores profesionales del médico. Particular interés tiene el art. 149 de la Ley Carolina, que establece que antes de la inhumación de un individuo muerto como consecuencia de un acto de violencia cualquiera, el cadáver será seriamente examinado por los cirujanos, que emitirán su informe sobre la causa de la muerte.

Se había creado la peritación médica y con ella empieza a desarrollarse una elemental bibliografía especializada. Como señala la MENDE, los peritos reunían y ordenaban de entre su material científico todo lo que era relevante para la administración del Estado a los fines médico-legales hasta conseguir cierta homogeneidad.

A esta homogeneidad se la denominó Medicina Legal. La dependencia judicial explica también la variedad de la materia, objeto de su conocimiento, su carácter enciclopédico, al tener que resolver todas las cuestiones de índole biológica que le eran formuladas por los tribunales. Las funciones prácticas de la Medicina Legal fueron creciendo paralelamente a como lo hacían las demandas ante los Tribunales, cada vez más y más complejas. El médico legista difícilmente podía abarcar todo el saber necesario para resolver todas las pericias al nivel técnico que el desarrollo

de la ciencia le exigía y la trascendencia de la prueba pericial requiere, es aquí donde surgen las primeras críticas a esta ciencia y a sus protagonistas.

Finalmente la dependencia judicial configura el propio contenido e identidad de la Medicina Legal, como dijera certeramente el Prof. Blas AZNAR «No hay Medicina Legal en tanto no hay una Ley que le dé vida». La Medicina Legal nació con las exigencias de la justicia y a ella debe quedar ligada (PALMIERI).

Hasta aquí, la Medicina Legal se ha orientado exclusivamente hacia la práctica jurídica, utilizando, en la mayoría de los casos, una metodología que no le es privativa de ella, sino de la ciencia médica en general. Así considerada, no podríamos hablar de una ciencia propia e independiente.

Ya MENDE, hace 150 años, señalaba que al tratarse de una mera transmisión de conocimientos —en una sola dirección en aquella época— solamente podía hablarse de «instrucción» en Medicina Legal, pero no de ciencia médico-legal.

Hoy podría hablarse de que la Medicina Legal se orienta también y cada vez con mayor rigor, hacia la práctica médica. Creo que resultaría inútil reseñar aquí, los múltiples problemas de Derecho Médico que agobian a nuestros clínicos, que demandan, al menos, su instrucción. A modo de ejemplo podríamos citar: eutanasia, consentimiento para la actuación médica cuando ésta incide sobre el patrimonio biológico común de la pareja legalmente constituida, el aborto, la inseminación artificial heteróloga, los trasplantes, la hospitalización compulsiva, la alimentación artificial en la huelga de hambre, la valoración del daño biológico, la investigación de la paternidad, los problemas médico-legales de los seguros, etc.

Situada pues la Medicina Legal entre la Medicina y el Derecho, se proyecta sobre la práctica médica y sobre la práctica jurídica.

dica, pero en ambos casos tomando de otras ciencias la metodología y la doctrina que le ayudarán a la resolución de las cuestiones formuladas. Aunque la práctica se proyecte hoy en una doble vía, de gran trascendencia en ambos casos, el postulado de MENDEL sigue siendo válido.

Es cierto, que durante el desarrollo de nuestra disciplina, como señala OSKAR GRÜNER, fueron surgiendo preguntas que no podían ser resueltas fuera del campo de la Medicina Legal y que exigieron una nueva metodología experimental, una auténtica investigación. De esta manera, se fueron consolidando sectores de investigación en casi todas las áreas de la Medicina Legal. Así, la Toxicología tan unida a la Química por su fundamento y metodología, se engrandeció en el seno de la Medicina Legal y gran número de las técnicas de aislamiento e identificación de tóxicos fueron creadas por los médicos legistas para sus fines; igual ocurre con la hematología. El capítulo de los grupos sanguíneos recibió un gran impulso de la Medicina Legal, así como las técnicas para establecer la individualidad grupo-específica de las manchas biológicas, todo ello ha configurado, al menos, un grupo de trabajo con objetivos concretos y técnicas propias, denominado Hematología Forense.

Considerada como ciencia aplicada, la Medicina Legal no tiene límites y el médico legista podrá estar tentado a buscar nuevos derroteros sin que en la mente del investigador exista ese punto de referencia que le de coherencia al mundo médico legal. Ya MERKEL, había señalado el riesgo que supone la trasgresión de límites, advertencia repetida en el último Congreso de los médicos legistas alemanes, celebrado en Berlín, especialmente por KRAULAND, SCHWERT y LEITHOFF, que propugnan «evitar la carrera en busca de nuevas formas», para de este modo conservar una unidad como disciplina y así lograr una consolidación científica.

Consciente de esta verdad, y aunque en el terreno de la práctica forense hemos procurado ampliar nuestro marco de actuación

todo lo lejos que nuestras posibilidades en personal e instrumental lo permitían, en el campo de la investigación médico legal lo hemos circunscrito a aquel terreno que consideramos monopolio indiscutible de la Medicina Legal: La Tanatología.

Es de esto de lo que vengo a hablar aquí. Formado en una Escuela rigurosamente científica, inspirado en la concepción que de la Medicina Legal tenía el Prof. PESET, que era buscar en las ciencias afines aquello que nos era útil para hacer cada vez más científica la prueba pericial. Así, a diferencia de los de su época, la labor científica de la Escuela de D. Juan PESET, de la que me siento discípulo e intérprete, se desarrolla en el laboratorio, aplicando el método experimental y obteniendo resultados, que después podrían servir para resolver los problemas periciales concretos. Nadie podrá tildar a esta Escuela de practicar una ciencia anecdótica, curiosa o simplemente interesante, sino de hacer ciencia, más o menos modesta, pero ciencia, basada en los postulados del método científico.

Como respeto a esta Docta Corporación he querido traer aquí lo mejor, que yo y mis discípulos, hemos desarrollado en los últimos años en este campo genuino de la Medicina Legal como ciencia. La Tanatoquímica.

DELIMITACION CONCEPTUAL

Cuando EVAN propone este término en 1963, para explicar los procesos que acontecen en el cadáver a nivel molecular, quizás está huyendo de ese otro más vitalista de Bioquímica cadavérica. La meta básica actual de la Bioquímica, al decir de LEHNINGER, es determinar de qué modo el conjunto de moléculas inanimadas que constituyen los organismos vivos se influyen mutuamente para constituir, mantener y perpetuar el estado de la vida. Según esta directriz, no podríamos hablar de bioquímica cadavérica, pero si miramos al hecho principal que determinó el que la Bioquímica se segregase de la Fisiología y de la Química, cual es el reconocimiento de los sistemas multienzimáticos como

unidades catalíticas en las rutas metabólicas, entonces podremos hablar de una bioquímica cadavérica, aunque le falte siempre esa dirección hacia el mantenimiento y perpetuación de un estado vital, garantizado por una transferencia de energía en la célula viva.

Al igual que no se nace en un momento, tampoco se muere en un instante, y en el cadáver coexisten momentos vitales distintos, concepto éste, de indudable interés para la comprensión del fenómeno de la muerte y de los problemas médico-legales que ella plantea. CLAUDE BERNARD había dicho que «las células viven en conjunto y mueren separadamente». D'HALLUIN a principios de siglo nos habla de una muerte por etapas, que más modernamente se ha configurado en tres estadios: el de «muerte relativa» o muerte aparente, donde existe aún una actividad metabólica que hace posible la resucitación, la «muerte intermedia», donde hay alteraciones metabólicas que impiden la recuperación, es lo que el Prof. GIBBERT llama el punto de no retorno y la «muerte absoluta o muerte molecular» de los anglosajones, caracterizada por las alteraciones bioquímicas y estructurales propias del cadáver. Se puede hablar de una vida residual en el cadáver, con dos expresiones distintas: una biológica y otra bioquímica.

La primera fue bien sistematizada por BIANCHINI en 1930, y pudo establecer cómo después de la muerte se siguen produciendo los movimientos fibrilares de los epitelios respiratorios hasta 13 horas, la motilidad de los espermios hasta 34-36 horas. Años después, se evidenció la excitabilidad de las glándulas sudoríparas, la reacción de la pupila, la excitabilidad muscular por estimulación farádica y farmacológica, los potenciales evocados obtenidos tras excitación de un nervio post-mortem, la transformación blástica en los linfocitos estimulados por fitohemaglutininas hasta 36 horas post-mortem, la capacidad cariocinética hasta las 6 horas, la capacidad fagocítica de los neutrófilos hasta las 24 horas.

Como exponente de la segunda tenemos los trabajos enca-
minados a poner de manifiesto la persistencia de los mecanis-
mos de óxido-reducción post-mortem, entre ellos cabría citar los
de CARRIERO, que basándose en la reducción de las sales de
Teluro y midiendo el consumo de oxígeno por el método de
Warburg, encuentra actividad hasta 24 horas post-mortem. Con
otros sistemas enzimáticos, como la succínico deshidrogenasa, se
llega a actividades más prolongadas, o más cortas como el caso
de oxidación del piruvato-malato, que cesa a los 180 minutos
post-mortem, según las experiencias de GALLAGUER, JUDAH y
RESS.

Esta concepción del devenir inmediato del cadáver, nos lleva
a modificar el capítulo más clásico de la Medicina Legal, como es
el de los fenómenos cadavéricos y ello no con un afán innovador,
exclusivamente semántico, sino porque esta nueva concepción
plantea una nueva forma de acercarse al fenómeno cadavérico y
obtener una semiología más rica y veraz.

Así, nuestra propuesta es clasificar a los fenómenos cadavé-
ricos en: ABIOTICOS, que son aquellos que aparecen en el ca-
dáver como consecuencia de las leyes físicas que gobiernan los
cuerpos sin vida, y BIOTICOS, que son las modificaciones deriva-
das de la presencia en el cadáver de reacciones bioquímicas, y
que pueden manifestarse con una expresión biofísica o bioquími-
ca propiamente dicha.

Entre los fenómenos ABIOTICOS tenemos: deshidratación,
enfriamiento, livideces.

Entre los fenómenos BIOTICOS con una expresión Biofísica:
rigidez, cambios en las membranas celulares, modificación del
punto crioscópico, del índice de refracción, de la conductividad
térmica, del pH, del potencial Redox.

Los de Expresión Bioquímica, que son los más abundantes,

se deben a la presencia en el citoplasma de los enzimas lisosomales. Son destructivos y reconocen un doble origen: de autoagresión o autolisis —en los que los enzimas lisosomales pertenecen a las propias células del individuo— o de heteroagresión-putrefacción, interviniendo enzimas bacterianas.

El alto grado de complejidad y perfecta organización que adquirió la organela, la célula, el tejido, el órgano, el individuo, en un continuo proceso hasta conseguir un ser vivo capaz de tomar la energía externa para mantener su propia organización estructural, se perderá en el curso de la autolisis y putrefacción en el mismo orden inverso hasta llegar a ese polvo bíblico, símbolo de la materia inanimada, constituida por compuestos químicos sencillos desprovistos de organización estructural y de función.

No es el aspecto cataclísmico y destructivo el que a nosotros nos interesa como una nueva frontera de la investigación tanatómica, sino aquel que nos conduzca a la resolución de problemas médico-legales. El desmoronamiento molecular sólo tiene interés, aún dentro de lo negativo, en tanto es capaz de suministrar información. Es así, que propugnamos una nueva forma de interrogar al cadáver, cual es la aplicación de técnicas bioquímicas.

Resulta un tanto sorprendente como esta metodología no se ha generalizado aún entre los médicos legistas. Así, si revisamos los más modernos Tratados de Medicina Legal, encontramos que sólo uno, el editado en EE. UU. por TEDESCHI-ECKERT (1977), consagra un capítulo a los cambios químicos de la sangre, líquido cefalorraquídeo y humor vítreo y lo orienta hacia esa nueva concepción del examen del cadáver. Tratados como el de CURRAM, editado en 1980, al hablar de los especímenes que deben recogerse preceptivamente en la autopsia, hace mención de la sangre, orina y bilis, pero sólo con fines toxicológicos o de identificación de grupos sanguíneos.

El más voluminoso y enciclopédico Tratado del mundo médico legal latino, el del Prof. L. DEROBERT con puestas al día anuales,

dedica media página al examen del laboratorio post-mortem y sin la orientación que antes hemos apuntado. Es de resaltar, que entre todos los Tratados publicados, quizás sea el de mis maestros, los Profesores GISBERT y LOPEZ-GOMEZ, los que entendieron con más clarividencia el problema y así los capítulos de la Data de la Muerte y la Agonía, están tratados a gran altura y modernidad.

Estimo que un discurso de ingreso debe ser fundamentalmente doctrinal, y de ahí que no me exceda en citas bibliográficas, y remito al lector interesado a otros trabajos que sobre éste y otros temas conexos tengo publicados.

ALCANCE DE LA AUTOPSIA JUDICIAL

Es en la autopsia judicial donde se compendia toda la Medicina Legal y en ese momento deben darse cita todos los servicios que integran el Departamento de Medicina Legal y entre ellos el de Análisis Bioquímicos. La autopsia médico-legal, por los fines que persigue y las actuaciones que comprende, es mucho más que la simple obducción. Entre esos fines y de modo prioritario, está el esclarecer la causa de la muerte, su mecanismo de producción y cuantos procesos patológicos hayan podido modificar el curso y resultado final del proceso. Pero no siempre el objetivo central de la autopsia será la causa de la muerte, en ocasiones será mucho más trascendente resolver otros problemas, tales como: data de la muerte, identificación de la persona, valoración de las concausas, duración de la agonía, etc., y que en circunstancias normales no tienen tanto valor. Podemos decir, sin temor a equivocarnos, que la autopsia médico legal pone a prueba la calidad de un servicio médico legal, y que no hay un mejor criterio de evaluación de la calidad de éstos, que el número de autopsias negativas en sus estadísticas. Debemos definir con rigor como autopsia negativa, no aquella en la que no se encuentran hallazgos, las autopsias blancas de los patólogos antiguos, sino aquella que no es capaz de resolver todos los problemas médico-legales planteados y que la administración de justicia confiaba en resolver al proponer la prueba. Así expresado nuestro concepto sobre el alcance de esta pericia, las autopsias médico legales negativas son mucho más frecuentes de lo que figura habitualmente en las estadísticas oficiales. Ya en lo que se refiere al propio diagnóstico de la causa de la muerte, resulta hoy difícil admitir el término «autopsia blanca» o sin hallazgos. La muerte, como proceso biológico que es, va dejando una estela de alteraciones: moleculares, funcionales, estructurales y hasta

morfológicas. Cosa distinta es su puesta en evidencia. Las alteraciones funcionales jamás podrán ser evidenciales en la autopsia, las morfológicas y estructurales no precisarán más que una observación atenta, y si acaso, un complemento microscópico, pero las alteraciones moleculares exigirán un examen bioquímico o histológico.

Autopsias negativas de hace algunos lustros, en el campo de la Toxicología, son hoy resueltas al cien por cien; algunas muertes criminales en las que se emplearon productos farmacológicos muy al uso como la digital, son hoy perfectamente resueltas, al poder diferenciar, gracias a los análisis cuantitativos con fluorimetría, RIA o EMIT, las dosis terapéuticas de las tóxicas. Igualmente podríamos decir cuando, con idénticos fines, se han empleado productos fisiológicos, tales como la insulina o adrenalina, análisis ambos inalcanzables hace algunas décadas.

El análisis complementario bioquímico resultará necesario en los siguientes capítulos.

1.—PROCESOS QUE CURSAN CON PERTURBACIONES METABOLICAS

Este grupo suele caracterizarse por alteraciones funcionales secundarias a alteraciones metabólicas. En casi todos los casos, encontraremos un sustrato anatómico, pero esta lesión no nos explicará la dinámica final de la muerte. Es cierto que en el páncreas de los diabéticos se encuentran alteraciones de los islotes de Langerhans en el 74% de los casos, con lesiones de las células β (desgranulación, degeneración hidrópica, picnosis nuclear, atrofia) y que podremos encontrar lesiones secundarias a esta diabetes: arterioesclerosis sistémica, afectación coronaria, lesiones de retina, cataratas, etc.; pero cuando el diabético plantea problemas médicos legales, es cuando muere rápidamente de un coma inatendido.

La duda surge como muerte sospechosa que es, y esclarecer si fue o no un coma diabético, puede resultar trascendente. Nadie diagnosticaría una muerte por coma diabético basado exclusivamente en el examen anatomopatológico, las alteraciones bioquímicas que caracterizan este estado patológico son necesarias. La hiperglucemia, la presencia de cuerpos cetónicos o la dosificación de insulina, darán el diagnóstico etiológico y fisiopatológico de la muerte y de su mecanismo. Lo mismo podríamos decir de otros procesos como: los comas, hipoglucémico o urémico; trastornos del metabolismo, hidrosalino, ácido/base, etc.

En las muertes súbitas de origen endocrino cabe hacer similar razonamiento, sólo la perturbación bioquímica puede explicar la causa final de la muerte, así ocurre en las insuficiencias suprarrenales, fuera de la hemorragia masiva, la tirototoxicosis, el feocromocitoma, o alguna muerte súbita que pudiese cursar con alteraciones del metabolismo de las porfirias.

En todos los casos, el análisis bioquímico será el complemento ideal para el diagnóstico, cuando no la clave del mismo.

2. PROCESOS YATRÓGENOS Y ALÉRGICOS

EPSTEIN y GRUNDY estiman que al menos un 5% de las admisiones hospitalarias son debidas a reacciones adversas a las drogas y que como mínimo un 15% de los hospitalizados, presenta esta misma reacción. Sin embargo, la incidencia de muertes a las que se le reconoce un origen yatrogénico es francamente baja, para algunos un 0,22% (16 pacientes en 7.423 hospitalizados) de ellos la mitad de las muertes corresponderían a antisépticos y anestésicos. Otros conjeturan, que cifrar entre 60 y 140.000 muertes al año en EE. UU., como consecuencia de procesos yatrogénicos, sería una postura excesivamente conservadora y sugieren que muchas muertes ocurridas en régimen ambulatorio, y que son

debidas a este mecanismo, no son constatadas. Este tipo de muerte es susceptible de plantear problemas médico-legales. En un trabajo publicado por el Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los EE. UU. sobre 827 autopsias debidas a reacciones adversas a los medicamentos, un 3% obedecían a errores terapéuticos. En otros casos, la muerte sobreviene de modo brusco o en pleno acto anestésico. Las denuncias por «mal práctica» en este terreno son sumamente frecuentes. El diagnóstico en la autopsia es extremadamente difícil, pues raramente encontramos cambios orgánicos o estructurales lo suficientemente patognomónicos como para hacer un diagnóstico etiológico. Lo más frecuente es una inflamación inespecífica, una degeneración o necrosis celular, una hiperplasia o en casos más raros teratogénesis o metagénesis. Discriminar las alteraciones que corresponden a la enfermedad, para la cual la droga se emplea, de las debidas a la droga en sí misma, puede ser extremadamente difícil; pero establecer el protagonismo de la droga en el desencadenamiento de la muerte puede ser imposible. En estos casos, para poder iniciar un proceso demandando una responsabilidad profesional, será preciso establecer el nexo de causalidad entre la droga y la muerte y por tanto, la primera etapa será descubrir la droga en el cadáver. Aquí el «habeas corpus» es la droga y deberá ser puesta en evidencia, bien como tal, como metabolito o como respuesta específica a una inhibición enzimática producida por aquella.

Descubierta la presencia de la droga y su concentración en sangre y tejidos, habrá que demostrar el nexo de causalidad con el hallazgo. Muchos de estos hallazgos son de expresión bioquímica: discrasias sanguíneas, coagulación intravascular, disfunciones hepáticas, perturbaciones en la síntesis del HEM, trastornos del metabolismo de los hidratos de carbono, de los lípidos, del metabolismo hidro-mineral, disfunción endocrina, etc. Los dos elementos en que podría sustanciarse un proceso judicial, sólo pueden ponerse en evidencia por pruebas de laboratorio.

Particular gravedad plantean las reacciones alérgicas cuando

se manifiestan clínicamente con un cuadro anafiláctico mortal. En la mayoría de los casos, su expresión clínica: shock, arritmia cardíaca, edema laríngeo, no tiene traducción en el cadáver y habrá que apoyarse en técnicas inmunológicas y/o bioquímicas para su diagnóstico.

Nos enfrentamos por tanto ante un nuevo problema, que estadísticamente nos empieza a preocupar, y para el que todavía no disponemos de medios diagnósticos adecuados. Es este uno de los terrenos donde la tanatoquímica tiene un porvenir brillante.

3. PROCESOS DE INDOLE INFECCIOSA

Quizás sea éste uno de los capítulos peor tratados por desconocido, y en donde cabe esperar unos progresos importantes en los próximos años.

Las muertes de etiología infecciosa, que pueden presentar problemas médico legales son de tres tipos:

A) AQUELLOS PROCESOS QUE SURGEN DE MODO BRUSCO Y ARRASTRAN A LA MUERTE DE UNA FORMA REPENTINA, PLANTEANDO LOS MISMOS PROBLEMAS QUE UNA MUERTE SUBITA.

Entre ellos tenemos septicemias fulminantes, cuadros virales hemorrágicos, las toxinas potentes (botulina y tetánica), etc. Las encefalitis post-vacunales y algunas asociadas a un síndrome de *Reye*.

B) LAS CONCAUSAS DE ETIOLOGIA INFECCIOSA.

Problema arduo y difícil en el terreno del Derecho Civil, algo más sencillo en el Derecho Laboral, al no exigirse aquí un claro deslinde entre causa y concausa, sea ésta precedente o subsiguiente.

C) LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS ETIQUETADAS DE «ENFERMEDAD PROFESIONAL», DONDE EL DEMOSTRAR EL CARACTER DE PROFESIONAL EXIGE UN DIAGNOSTICO ETIOLOGICO PRECISO.

En el cadáver, el diagnóstico etiológico de las enfermedades infecciosas sólo puede realizarse generalmente por pruebas inmunológicas. El cultivo microbiológico no suele ser convincente, habida cuenta la grave contaminación bacteriana que se produce tras la muerte.

El diagnóstico de la muerte por tétanos, se sigue basando en los síntomas clínicos, sin que la autopsia aporte nada específico al juicio que habíamos formulado antes de comenzarla. Creemos que la investigación de la toxina en el cadáver, debe acometerse por arduo que sea el problema, pues como es bien sabido no cabe esperar colaboración alguna por parte de los anticuerpos, que obviamente estarán ausentes.

Aquellos procesos infecciosos, que producen anticuerpos ligados a inmuno-globulinas, podrán ser investigados en el cadáver sin mayores complicaciones.

4. *MUERTE VIOLENTA*, cuyo mecanismo lesivo sigue una alteración funcional, y en consecuencia no deja una secuela morfológica evidente. Entre los más frecuentes tenemos: hidrocución,

shock reflejo, muerte por frío, por descompresión brusca, (la enfermedad de los buzos).

Otras, pueden seguir mecanismos lesivos, no suficientemente esclarecidos, aunque pensamos en una base molecular, como sería el caso de las conmociones cerebrales.

5. INTOXICACIONES

En el cadáver se pueden diagnosticar: por aislamiento directo del tóxico, o por su expresión bioquímica. El análisis del tóxico como agente causante de la enfermedad deberá, necesariamente, ser cuantitativo y sólo ante concentraciones letales del mismo, podremos atribuir la causa de la muerte a este agente. La presencia de un agente tóxico en el organismo no necesariamente significa su participación en el proceso morboso, sin embargo, las alteraciones bioquímicas o estructurales, sí marcarán su participación en el proceso morboso. De otra parte, la expresión bioquímica del proceso tóxico puede ser más fácilmente investigada que el tóxico mismo. Así por ejemplo, el monóxido de carbono se investiga como carboxihemoglobina. La intoxicación por insecticidas fosforados orgánicos por la inhibición enzimática de la colinesterasa verdadera, la intoxicación saturnina por la eliminación excesiva de ácido delta-amino-levulínico en orina, la intoxicación de compuestos halogenados de los hidrocarburos alifáticos por la reacción de FUGIWARA, etc.

6. LA MUERTE SUBITA DEL RECIEN NACIDO

Queda por último este grave problema: sanitario, pediátrico y médico legal, pues si bien el número de síndromes de Muerte Súbita del Recién Nacido, han disminuido a la mitad en la últi-

ma década, todavía supone un 1,5 por 1.000 nacidos vivos. Hoy quizás representa a la muerte súbita por excelencia y los progresos bioquímicos sólo pueden coadyuvar a etiquetar correctamente de inexplicable esta muerte, eliminando otras, que obedecen a causas bien objetivables. Las últimas teorías, que sugieren una hipoxia crónica o una apnea durante el sueño y/o una hipoglucemia terminal, están aún por confirmar, y podría correr la misma suerte que las 73 hipótesis que les precedieron.

En conclusión, una pequeña proporción de muertes súbitas son explicadas completamente con sólo los hallazgos macroscópicos de la autopsia, dado que las alteraciones encontradas son incompatibles con la vida. Otro pequeño porcentaje, que obedece a alteraciones funcionales, no puede ser demostrado, entre ellos la Epilepsia y la Muerte Súbita del Recién Nacido, y finalmente un 90% de casos en los que la causa puede ser esclarecida si la autopsia se realiza completa. De aquí surgen tres ideas directrices que es necesario poner en práctica si realmente queremos hacer progresar nuestra Disciplina en este terreno.

A) LA NECESIDAD DE EQUIPAR A NUESTROS LABORATORIOS CON UN SERVICIO BIOQUIMICO DE RUTINA.

Ello puede abordarse hoy con suma facilidad dado el progreso instrumental alcanzado en los análisis de rutina, por ejemplo: los Technicon.

B) LA NECESIDAD DE AUMENTAR LA EXIGENCIA EN LA PRUEBA PERICIAL DE LA AUTOPSIA.

Ni los abogados, ni los jueces, ni los propios médicos legistas deben quedar satisfechos hasta que la prueba pericial agote todas sus posibilidades. El médico legista debe acostumbrarse a efectuar tomas de líquidos orgánicos, para el análisis bioquímico,

con la misma naturalidad y frecuencia con que lo hace el médico clínico, de otra parte, el análisis toxicológico, debe ser tan rutinario como lo es la apertura del estómago o el cráneo. Un maestro de primeros de siglo habría dicho: «grave responsabilidad le incumbe al médico legista que en una autopsia no abre y estudia detenidamente el estómago y su contenido», yo digo hoy: «grave responsabilidad incumbe al médico legista, que no toma los especímenes necesarios para una completa resolución de los problemas médico legales que la autopsia plantea y al juez instructor que lo tolera».

C) PROSEGUIR UNA INVESTIGACION CONTINUADA EN EL CONOCIMIENTO DE LOS VALORES BIOQUIMICOS NORMALES EN EL CADAVER Y LAS TECNICAS ANALITICAS QUE PERMITEN SU PUESTA EN EVIDENCIA.

TECNICAS COMPLEMENTARIAS BIOQUIMICAS EN EL DIAGNOSTICO MEDICO LEGAL

Es este el capítulo que se está renovando más, con aportaciones importantes, que aunque no todas vienen de la Medicina Legal, sí se están incorporando fluidamente y están ayudando a comprender e interpretar mejor fenómenos ya clásicos de nuestra Disciplina. El consignarlos todos nos llevaría demasiado lejos, pero a título de ejemplo podríamos apuntar:

1. En el campo de la Medicina Legal del Recién Nacido, los trabajos se dirigen al estudio de los Test de madurez fetal, como son los cocientes lecitinas/esfingomielinas y secreción bronquial. Los que permiten establecer la data del nacimiento, tales como: evolución de las inmunoglobulinas, de la hemoglobina fetal, de la α_1 —feto—proteína. Los que permiten establecer el diagnóstico de malformaciones fetales incompatibles con la vida.
2. En el campo de la Patología Forense, además de los problemas de diagnóstico que luego abordaremos en extenso, cabe señalar un amplio grupo de técnicas bioquímicas y químicas que ayudan a resolver problemas conexos con el mecanismo de la muerte, tales como:
 - a) Diagnóstico diferencial de las heridas vitales y post-mortem.

Han sido los estudios enzimáticos y bioquímicos de la escuela Finlandesa de RAEKALLIO, MUSTAELKALLIO, HIRWONEN, los más modestos de mi escuela, y los de FAZEKAS, los que están permitiendo resol-

ver el diagnóstico de las heridas producidas en ese período de vida relativa que TOURDES llamó de incertidumbre. El estudio en el borde de la herida de la actividad enzimática, tales como: aminopeptidasa, esterasa, ATPasa y catepsina, la concentración de serotonina e histamina, permiten hacer el diagnóstico de herida vital aunque la sobrevivencia tisular sea inferior a los quince minutos.

b) Diagnóstico diferencial de las lesiones debidas a la electricidad.

Determinar si una electrocución ha tenido o no lugar no siempre resulta fácil. Lo más frecuente es observar la marca eléctrica y sus alteraciones histopatológicas, tal y como las describió JELLINEK, y entonces el diagnóstico resulta evidente, pero hay casos en los que esta marca no aparece. A partir de 1973 se inician estudios conducentes a descubrir metalizaciones en la piel. Muchas técnicas se han empleado a este propósito, siendo la más reciente el «Scanner de barrido» acoplado a una sonda «microprobe» que permite realizar un examen cuali y cuantitativo de todos los metales presentes en el conductor y que al fundirse, por efecto joule, los deja incrustados en la piel.

c) Diagnóstico diferencial del orificio de entrada y salida.

En los disparos por arma de fuego, donde el orificio de entrada y de salida resulta a veces difícil de establecer, es necesario un examen complementario. En este campo, los análisis químicos de residuos dejados por la pólvora, fulminante y partículas metálicas de la bala, suelen contribuir a resolver este importante asunto.

- d) En las investigaciones de los accidentes de tráfico, donde resulta a veces trascendente investigar manchas de sangre, aceite, pintura, fibras, etc. Todas esas investigaciones se resuelven hoy gracias a técnicas bioquímicas o físico-químicas.

LA INVESTIGACION BIOQUIMICA EN EL CADAVER

La investigación bioquímica en el cadáver plantea una serie de problemas previos que es necesario conocer para su correcta solución:

1. VALORES NORMALES

Si las técnicas complementarias bioquímicas no han entrado en la práctica forense con la profusión que cabría esperar, se debe a la falta de fiabilidad de los valores de normalidad. Como consecuencia de los procesos que se instauran en la fase agónica y posteriormente en la autólisis y putrefacción, muchos compuestos orgánicos sufren transformaciones bioquímicas importantes, tanto cualitativas como cuantitativas. En el aspecto cuantitativo esta transformación puede ser tanto ascendente como descendente.

Los esfuerzos realizados por conocer los patrones de normalidad no siempre han conducido al éxito y sólo en aquellos casos en que se demuestra que el elemento no sufre modificación post-mortem, podemos emplearlo con garantía.

En la valoración de los elementos que sufren una transformación precoz post-mortem sólo cabe el realizar la autopsia lo más rápido que se pueda. En estos momentos, en los que se permite el trasplante de órganos vitales y la autopsia clínica, nada debería oponerse a realizar esta práctica lo más rápidamente posible, una vez establecida con todas garantías la muerte cierta.

Si hiciéramos la autopsia con precocidad podríamos valorar casi todos los elementos y concretamente aquellos que más significación tienen para el diagnóstico.

En la agonía ya se produce un aumento de Adrenalina y Nor Adrenalina secundaria a la hipoxia, que va a modificar el metabolismo de los hidratos de carbono, y de los fosfolípidos. Se produce un gran gasto energético con desdoblamiento de ATP-ADP y AMP y liberación de fósforo. La acidosis se instaura rápidamente como consecuencia de una progresiva glicolisis con liberación de ácido láctico y fosfórico. El nitrógeno α -amino y el nitrógeno no protéico, con excepción de la urea, ascienden pronto. De los enzimas las transaminasas, láctico-deshidrogenasa, fosfatasa y amilasas suben en las primeras horas post-mortem.

Los dos parámetros que teóricamente tienen mayor valor en el diagnóstico bioquímico como son, la glucosa y la urea, se comportan de modo opuesto, mientras la glucosa, tras un ascenso muy efímero, comienza rápidamente a degradarse, hasta llegar a desaparecer en 15 horas, la urea permanece estable y permite su utilización con fines diagnósticos.

A modo de sugerencia consideramos que los tiempos óptimos de toma deben ser: antes de la hora para potasio, fósforo y glucosa. Antes de las dos horas para transaminasas.

Los otros elementos son menos críticos en cuanto al momento de la toma.

2. LUGAR DE LA TOMA

Ha sido clásico el partir de la sangre del ventrículo derecho. La sangre en general y la del ventrículo derecho en particular plantean graves problemas en el análisis bioquímico. Con la hemólisis se producen los siguientes fenómenos:

- A) El suero queda teñido y añade una dificultad suplementaria a las reacciones de coloración.
- B) Los elementos bioquímicos intracelulares pasan al suero y ya no es posible establecer la diferencia entre elementos celulares y plasma.
- C) En el caso particular de la sangre del ventrículo derecho, dada su íntima conexión con la cava, hace que se contamine por los procesos engendrados en la agonía y en las primeras fases de la autólisis de hígado y páncreas e incluso por difusión del contenido gástrico. Así, se sabe que la concentración de glucosa en el ventrículo derecho es muy superior a la de la sangre periférica. Igual ocurre con la insulina.

Estos inconvenientes han dirigido las investigaciones a otros productos biológicos como son aquellos que se encuentran en lugares cerrados y por tanto hurtados a la contaminación. Los medios biológicos investigados han sido: líquido cefalorraquídeo, humor vítreo, humor acuoso y líquido sinovial. Nosotros preferimos el humor vítreo por su fácil accesibilidad y el no estar tan fuertemente condicionado por los procesos agónicos y los cambios post-mortem. En caso de emplear la sangre partiremos siempre de sangre venosa periférica, bien de femoral o de la subclavia.

Más recientemente TRELA propone el líquido perilinfático en el oído interno con fines forenses, consigue extraer hasta 300-350 ml. de líquido donde es posible analizar alcohol, grupos sanguíneos, α -tripsina y otros elementos.

En 1975, como continuación de los trabajos que habíamos desarrollado antes en humor vítreo, iniciamos una amplia línea de investigación sobre el líquido pericárdico. Nos pareció particularmente interesante estudiar este fluido, pues dada su vecindad al corazón y las funciones fisiológicas que cumple, podría expresar, mejor que ningún otro, los compromisos hemodinámicos de la víscera cardíaca y sus alteraciones orgánicas.

Era la primera vez que en la Literatura mundial se abordaba este tema, y ello supuso una gran servidumbre científica, como fue la de carecer de referencias bibliográficas, pero también ha supuesto la pequeña vanidad de ser pioneros en un área del saber médico legal, hasta ese momento yerna.

3. *EVOLUCION POST-MORTEM DE LOS COMPONENTES BIOQUIMICOS*

Son abundantes los trabajos consagrados al estudio del comportamiento post-mortem de los componentes bioquímicos. Algunos de ellos han ido específicamente dirigidos al establecimiento de la data de la muerte, otros a precisar ciertos aspectos de la forma de muerte, si rápida o lenta, y, finalmente, otros buscando un aprovechamiento diagnóstico post-mortem. Dentro de la amplia bibliografía existente merece destacarse los excelentes trabajos de revisión de SCHELEYER (1963), OLIVEIRA DE SA (1965), LUNDQUIST (1965) y COE (1974).

Nosotros mismos nos hemos ocupado de este tema en dos ponencias en sendos congresos internacionales de Medicina Legal, los celebrados en Valencia (1977) y Granada (1980).

Aquí sólo resaltaremos los hitos más importantes, así como las novedades que en este campo se han producido en los dos últimos años.

COMPORTAMIENTO DE LA GLUCOSA.—

En suero: RATHERLY y TRAVERSE, así como MORRIONE y MAMELON observan una glicolisis post-mortem; como consecuencia de ello se produce un ascenso de glucosa en la vena cava y corazón derecho inmediatamente después de la muerte. El pri-

mero que describió este ascenso post-mortem fue HAMILTON-PATERSON y JOHNSON (1940), y aunque encontraba cifras variables, se podía hacer el diagnóstico de diabetes. En 1941 HILL sentó tres criterios claves:

1. Que el aumento de la glucosa en la aurícula derecha procedía de hígado.
2. Que la glicogenolisis ocurría a una razón aproximada de 12,8 mg. por cien por hora.
3. Que la asfixia podría producir un marcado incremento en la glucemia terminal. Encontró en enfermos no diabéticos muertos por otras causas, tales como: intoxicación de CO, valores de 336 mg por cien, en hipertensión intracraneal 560 mg por cien y en la estrangulación 608 mg por cien.

TONGE y WANNAN (1949), demuestran que en el cadáver se producen sustancias reductoras que pueden inducir a error si la glucosa se analiza por los métodos convencionales. En contraposición a los trabajos de HILL, encuentra que la razón de la glicolisis era distinta in vitro que in vivo y que la glucosa verdadera tarda mucho más tiempo en degradarse, siendo posible encontrarla a las 60 horas post-mortem en un sujeto presumible no diabético al momento de la muerte. En un caso de putrefacción avanzada, encontró sustancias reductoras por valor de 200 mg por cien, pero la glucosa estaba ausente. Sustentan la misma opinión de una hiperglucemia agónica en casos de asfixia, infarto de miocardio, pero nunca encontraron valores superiores a los 300 mg por cien, mientras que en 5 casos de diabéticos se alcanzó una cifra inferior a 400 mg por cien.

SCHMIDT (1970) en un trabajo experimental, encuentra que la glucosa en la vena cava se man-

tiene normal hasta los 60 minutos y en este momento comienza a ascender.

RAMU y CAMPS (1966) estudian la glucosa post-mortem en casos de intoxicaciones por CO en distintas partes del torrente circulatorio: corazón derecho, corazón izquierdo, vena de miembros superior e inferior. Los valores son más altos en el corazón derecho y más bajos en las venas de la extremidad inferior.

En líquido cefalorraquídeo: En (1940) HAMILTON-PATERSON y JOHNSON señalan que los estados hiperglucémicos pueden ser diagnosticados en el L. C. R. y según NAUMANN (1950) indica mejor el estado de diabetes que el suero. La concentración de glucosa basal, es decir en el momento de la muerte, lo establece en unos 200 mg por cien y en casos de asfixia se produciría una elevación.

FEKETE y KERENJI (1965) indican que la glucosa se degrada rápidamente cuando hay un estado hiperglucémico previo. En un grupo de diabéticos la concentración media de glucosa fue de 212 mg por cien.

Los estados de hipoglucemia no podrían ser diagnosticados. Para SCHOUROUP (1950) la glucosa desaparece del L. C. R. a las 6 horas. PINTO PUPO y REIS, coinciden en esta afirmación.

En humor vítreo: En humor vítreo no podemos hablar de valores normales, los llamados valores normales son extrapolaciones de los valores post-mortem. La única fuente de información in vivo son los ojos enucleados y evidentemente siempre serán ojos patológicos. Los valores obtenidos en animales varían mucho de unas especies a otras.

De los diferentes autores que se han ocupado del tema, NAUMANN (1959), STURNER y GANTNER (1964), LEAHY y FARBER (1967) encuentran niveles de glucosa más bajos que los de suero, prácticamente la mitad, pero más estables. Sin embargo, COE (1969) encuentra valores más elevados, 85 mg. Nosotros hemos estudiado el valor de la glucosa en 100 cadáveres procedentes de diversos tipos de muerte: violentas, súbitas y enfermos que murieron sin diagnosticar. Hemos empleado el método de la glucosa-oxidasa. Nuestros resultados indican que la glucosa desciende rápidamente después de la muerte, siendo influenciada por la temperatura. En nuestra serie de una hora post-mortem, el valor fue de 51,06 mg por cien con una desviación estándar de 39,71. A las 12 horas los valores eran de 15 mg por cien con SD 10,8. El valor en el tiempo cero, es decir, momento de la muerte, por deducción de la ecuación $y = 2,33x + 81,04$ sería de 81,04 con una razón de caída de $-2,33$ mg/hora. SCHONING y col. en 1980, realizan un amplio estudio en perros, analizando los cambios bioquímicos post-mortem en sangre, L. C. R. y humor vítreo de una serie de compuestos bioquímicos. Al ser una serie experimental ha podido precisar, los lapsus de tiempo post-mortem, las condiciones de temperatura y los datos ante-mortem. En el humor vítreo este dato metodológico es muy importante, por ser la primera vez que se conocen los valores de normalidad en este humor ante-mortem, si bien son valores en perros, no siempre extrapolables al hombre.

La glucosa en sangre, aumenta desde 105 mg% a las 3 horas a 391 a las 6 horas post-mortem para descender a 105 a las 12 horas y volver a ascender a las 24 horas y mantenerse aún muy alta a las 48 horas. Estos valores son referidos a 4°. Cuando el

perro se mantiene a 20° la caída es más rápida y a las 12 horas es la mitad de cuando estaba a 4° C y a las 48 horas no se detecta nada. Cuando el perro se mantiene a 37° a las 12 horas es la tercera parte que para la misma hora a 4°. A las 24 y 48 horas post-mortem no se detecta nada a 37° C.

El trabajo de SCHONING y col. viene a confirmar que la dosificación de la glucosa en sangre de ven-trículo derecho no es válida con fines médico legales y que los resultados tendrían que valorarse con sumo cuidado, por muy precoz que fuese la toma, ya que a las tres horas post-mortem ya encuentra valores claramente patológicos que podrían llevarnos erróneamente a un diagnóstico de hiperglucemia.

Los valores de glucosa en vitreo ante-mortem son de $73,46 \pm 10,04$, valores muy similares a los encontrados por nosotros en el cadáver humano para un tiempo cero post-mortem, que fueron de 81,04. Confirma el autor un descenso desde el primer momento, que a las 6 horas post-mortem es de 55 mg% con relación a la cifra ante-mortem. La velocidad de la degradación se incrementa con la temperatura.

Este último trabajo quizás sirva para cerrar este capítulo de modo definitivo, al ser concordante con todos los anteriormente publicados. En consecuencia podríamos decir, que los niveles de glucosa post-mortem en sangre, tanto central como periférica, están sometidos a muchas variaciones y no permiten una evaluación post-mortem del metabolismo de los hidratos de carbono. Para COE, señalando las siguientes precisiones: que la sangre examinada fuese periférica, que la causa de la muerte no fue una asfixia mecánica o intoxicación, que no se hayan empleado medidas de reanimación,

que el nivel de glucosa sea superior a 600 mg%, podría decirse que el origen de tal hiperglucemia es diabético. Son muchos condicionantes para una vaga afirmación. En cambio, los valores en humor vítreo sí merecen más garantías. En nuestra opinión valores por encima de 200 mg% obedecen a una hiperglucemia ante-mortem, bien de origen diabético o de otro trastorno, o de origen terapéutico, pero excluyen las causas de muerte violenta, que en la sangre hemos visto pueden producir hiperglucemia. La acidosis diabética puede, por otro lado, confirmarse por el estudio de los cuerpos cetónicos en el mismo humor vítreo. Ciertas muertes súbitas acontecidas en diabéticos juveniles podrían ser fácilmente diagnosticadas, a partir de este líquido, que, por otra parte, tan fácil acceso tiene para el patólogo.

La hipoglucemia, capaz de producir también cierto tipo de muertes súbitas en sujetos en graves estados de depauperación en las huelgas de hambre, en el alcoholismo crónico, en tumores de páncreas y exceso de insulina por confusión de dosis o voluntariamente con fines suicidas o criminales, es difícilmente diagnosticable. Para poder realizarlo se exigirán dos condiciones: una gran precocidad en la toma, que puede cifrarse en menos de dos horas post-mortem, y encontrar valores inferiores a 20 mg%.

COE en los últimos años (1976) ha verificado que en los casos de embalsamamiento los valores de glucosa en vítreo no sufren modificación, como consecuencia del líquido conservante y por consiguiente puede valorarse como si de un cadáver fresco se tratase.

ACIDO LACTICO.—

En suero JETTER (1959) encuentra pequeñas concentraciones de ácido láctico en vida, 1 mEq/l., transcurrida una hora post-mortem, experimenta una enorme subida alcanzando valores de 20 mEq/l, este incremento persiste entre 12-24 horas. Los valores post-mortem llegan a ser 50-75 veces más altos que los obtenidos en vida.

En L. C. R. ha sido investigado por SCHELEYER que comprueba un ascenso regular hasta las 10 horas aunque estos valores no pueden ser aprovechados para la data.

En el humor vítreo ha sido estudiado por JAFFE (1962), quien encontró a las 20 horas post-mortem valores de 210-260 mg por cien, los niveles basales —momento cero— serían de 80-160 mg por cien.

Con fines diagnósticos YAMAMOTO estudia en ratas sometidas a hipoxia, hipercapnia y asfixia el comportamiento del lactato y encuentra que asciende, con relación a los controles, en las hipoxias y las asfixias, y desciende en las hipercapias precoces (30% O_2 , 30% CO_2 , 40% N). Estos resultados han sido ratificados por VAN BOVEN (1975).

JAFFE ha estudiado en humor vítreo otros metabolitos del ciclo de EBDEN-MEYEROF, como es el ácido pirúvico, que disminuye post-mortem rápidamente y cae desde valores de 2-3 mg % a 0.1,-0.2 mg % después de 10 horas.

Resulta difícil entender como generándose fundamentalmente el ácido láctico a partir del ácido pirúvico, con la intervención de la láctico-deshidrogenasa, aquel se eleva rápidamente en todos los líquidos cadavéricos, mientras que el pirúvico desciende

de a gran velocidad. Es posible que la actividad láctico-deshidrogenasa, que está muy aumentada post-mortem, sea la responsable de acelerar el metabolismo del ácido pirúvico y eliminarlo rápidamente de los líquidos orgánicos. El paso glicolítico por ácido pirúvico sería pues muy rápido.

No hay trabajos detallados que expliquen el ciclo de EBDEN post-mortem, sólo el de TSUNENARI y col. que se ocupan del estudio de la actividad de la hexoquinasa, fosfofructoquinasa y piruvatoquinasa, en hematíes, y durante un período post-mortem de 3 a 60 horas. La actividad de estas enzimas se mantiene normal dentro de las tres primeras horas, aunque después cae; pero es justamente en las primeras horas donde se produce una rápida degradación de la glucosa, coincidiendo justamente con el período de actividad enzimática.

COMPUESTOS NITROGENADOS.—

Proteínas: Las proteínas totales y las fracciones protéicas han sido ampliamente estudiadas, partiendo de los materiales más diversos: sangre, L. C. R., humor vítreo, humor acuoso, líquido sinovial, extractos musculares, cerebrales, extravasaciones cavitarias putrefactivas y líquido pericárdico.

Los primeros estudios parten de sangre in vitro y fueron realizados por SCHELEYER en 1953, empleando la electroforesis en papel. Los trabajos de SANTINI en 1958, sientan una doctrina que ha sido aceptada con posterioridad, el aumento de las β -globulinas y el descenso de la albúmina. Trabajos más recientes como el de COE (1973) y con una técnica más resolutive, como la electroforesis en

acetato de celulosa, siguen encontrando un aumento de β -globulinas y un descenso de albúminas, mientras las proteínas totales no experimentarían cambios. El aumento de las β -globulinas, según FONTAINE y MULLER, sería debido a la autólisis. Buscando un medio no contaminado, se han estudiado en L. C. R., donde la mayoría de los autores coinciden en señalar un aumento protéico. El electroforegrama se caracterizaría por un aumento de albúmina y β -globulinas, un descenso de α -globulinas y una estabilidad de γ -globulinas.

Más recientemente, se han estudiado las proteínas en humor vítreo, siendo VILSTRUP y KORNERUP (1955) los pioneros en este estudio, quienes encuentran valores muy bajos de proteínas totales sobre 40-80 mg por cien. Con una proporción albúmina/globulina de 46-50. Todos estos trabajos se hicieron empleando electroforesis en papel. En 1970 empleamos nuestros trabajos sobre este líquido y entre otros parámetros estudiamos, la concentración de proteínas solubles y las fracciones electroféticas. Para las proteínas totales se empleó una técnica convencional, el Lowry, y para las fracciones protéicas, la electroforesis en gel de acrilamida, según ORSTEIN y DAVIS.

Nuestros resultados sobre 100 humores vítreos de cadáveres fueron: una concentración de proteínas totales en el momento cero, de 104 mg %, algo más elevada que la encontrada por otros autores, con una tendencia a aumentar con la data, la ecuación de este ascenso en función del tiempo post-mortem es de $y = 1,96x + 104,1$ con un coeficiente de correlación de 0,18 que es significativo al 0,1.

Las fracciones protéicas encontradas por nosotros son superiores a las descritas en la literatura y

se asemejan mucho a las del suero. Aunque los resultados son dispersos, es de destacar un descenso de albúmina y un aumento de globulinas en la zona de las $\alpha\gamma\beta$. Resulta difícil explicar un aumento de proteínas post-mortem, tal y como nosotros hemos constatado, y sólo cabría hacerlo en base a dos mecanismos: bien por concentración, o por paso de proteínas tisulares al ojo. En cuanto a la modificación del patrón electroforético sólo cabría pensar en una difusión de proteínas del vítreo a los tejidos y viceversa, siendo la albúmina, la de menor peso molecular, la más fácilmente difusible.

Un trabajo similar hemos seguido en la Tesis Doctoral de A. LUNA, que estudia 121 líquidos pericárdicos y los resultados han sido igualmente concordantes. Se constata un incremento significativo de las proteínas con la data.

En relación con las fracciones proteicas, las albúminas descienden con una significación estadística del 1 %, las α_1 , α_2 y γ aumentan y la fracción β no se modifica. Se mantiene el esquema general de descenso de albúmina y aumento de globulinas, salvo las β que al no existir hemolisis en el líquido pericárdico no se modifica.

Particular interés tienen los estudios de las inmunoglobulinas por sus implicaciones en el diagnóstico de los procesos infecciosos y alérgicos.

BRAZINNSKY y KELLEMBERGER (1970), Mac CORMICK (1972) y ALTHOFF (1976) comprueban la estabilidad post-mortem de las inmunoglobulinas y establecen una buena correlación entre los valores ante y post-mortem. Mac CORMICK se plantea el estudio del título de anticuerpos post-mortem y que suelen mantenerse inalterados durante las primeras diez horas. Los anticuerpos anti-tifus

descendieron dos títulos en relación a la cifra pre-mortem, en cambio, anticuerpos anti-australia desaparecieron, así como el antígeno. En cuanto a los valores IgM e IgG se mantienen estables, al menos 24 horas. **KELLEMBERGER**, sin embargo, encuentra un descenso del 25% para la IgG, IgM e IgA en 32 casos estudiados.

En relación con el diagnóstico post-mortem debe ser tenido en cuenta que el derrame cavitario secundario a la putrefacción, tiene el carácter de un líquido de edema con presencia de proteínas. Han sido los trabajos de **BONTE** (1975) y **BENEKE** los que han precisado este punto.

AMINOAOCIDOS.—**PUCHER** y **BURD** describen en 1925 que tras la muerte se produce un aumento brusco de aminoácidos libres en suero y en líquido cefalorraquídeo, secundario a la proteólisis tisular. **SCHOUROUP** (1950) en su Tesis Doctoral, verificó el hallazgo anterior, en L. C. R. y comprobó que el incremento seguía una progresión aritmética, por lo que proponía aplicarlo al estudio de la data de la muerte. En 1965, **TOMINAGA** estudia el orden de aparición de los aminoácidos libres en humor vítreo y llega a establecer una secuencia de los mismos.

El trabajo más reciente corresponde a **PERRY** y col. (1981) quien estudia el comportamiento post-mortem de 35 aminoácidos en tejido cerebral total y áreas cerebrales. El trabajo se efectúa sobre material biopsico y cerebros procedentes de autopsias a los que se incuban a distinta temperatura y diferentes intervalos de tiempo, simulando lo que ocurre en el cadáver. El fin del trabajo es conocer la evolución post-mortem para poder interpretar correctamente los hallazgos en casos de pacientes con trastornos neurológicos o psiquiátricos. El contenido

do en ácido glutámico, glutamina, taurina, fosfoetanolamina, cistationina y homocarnosina, permanece inalterable durante largos períodos. El ácido aspártico es sólo estable durante cuatro horas para aumentar después rápidamente. La glicocola, así como los demás aminoácidos componentes de proteínas, aumentan rápidamente. El glutatión cae rápidamente. El GABA sólo es estable 30 minutos y aumenta para alcanzar el máximo a las 2-3 horas después de la muerte.

NITROGENO RESIDUAL.—La dosificación del nitrógeno residual, por el método de KJELDAL, ha sido ampliamente estudiado post-mortem y desde antiguo (1940). Generalmente la finalidad de estos estudios se han dirigido hacia la data de la muerte. Las afirmaciones han sido controvertidas y poco precisas, así SCHELEYER en 1963, establece que una concentración de N_2 menor de 50 mg % en suero, indica que el cadáver lleva muerto menos de 12 horas; SCHOUROUP (1950) evidencia igualmente un incremento de N_2 , pero encuentra grandes oscilaciones que atribuye a la urea.

Ello ha conducido a estudiar individualmente los distintos elementos que podrían intervenir en esta elevación del N_2 no protéico, como son: Urea, Creatina-Creatinina, Amonio.

UREA:

La urea es uno de los elementos, que junto a la glucosa, podría tener máximo interés en el diagnóstico post-mortem. En torno a este elemento se han hecho numerosas investigaciones no siempre concordantes, tanto en sangre, como en L. C. R. y humor vítreo. Por ello no vamos a reseñar aquí toda la

bibliografía antigua sobre el comportamiento de la urea en sangre y L. C. R. y nos ceñiremos sólo al humor vítreo y líquido pericárdico, glosando nuestra propia experiencia sobre el tema.

En un estudio sobre 100 cadáveres de procedencia hospitalaria y judicial, encontramos que el valor en el momento cero es de 67,28 mg %, con una tendencia a disminuir con el intervalo post-mortem de 0,53 mg/hora. Esta opinión es hoy sustentada por otros muchos autores como COE, para el cual los valores de urea del humor vítreo son similares a los de la sangre y permanecen inmodificados hasta momentos muy tardíos post-mortem, por ejemplo, 100 horas.

SCHONING (1950) establece que el valor normal de la urea vítreo pre-mortem es de 14,55 mg % en el perro, con un rango de 4-31,7. El comportamiento post-mortem, en función de la data y de la temperatura a la que permanece el perro, indica que a 4°C es estable en un intervalo post-mortem de 48 horas. Mientras que a 20° permanece inalterable 24 horas y a 37° sólo 12 horas. LUNA, en nuestro Laboratorio, encuentra una estabilidad post-mortem de la urea en líquido pericárdico hasta las 37 horas.

CREATININA.

Prácticamente los autores que se han ocupado de la urea lo han hecho también de la creatinina, sin embargo, para este parámetro hay mayor unanimidad en cuanto que permanece inalterable post-mortem, siendo los resultados obtenidos en el cadáver fiel reflejo de los que había pre-mortem, de ahí que NAUMANN y JENSEN opinen que es el mejor proceder para evaluar la función renal, desde los valores post-mortem. El medio más idóneo, aunque el

suero puede ser utilizado antes de transcurridos tres días post-mortem en que los valores empezarían a no ser fiables, es el humor vítreo. En líquido cefalorraquídeo puede aumentar post-mortem, según los trabajos de BOLLIGER y CARRODUS.

En humor vítreo los niveles de creatinina son más bajos que los encontrados en suero, NAUMANN encuentra un valor medio de 1,2 mg %, frente a 1,5 mg % en suero, para la misma serie de individuos.

LUNA encuentra una estabilidad post-mortem en líquido pericárdico hasta la 37 horas.

AMONIACO:

La fase final del desmoronamiento protéico en el curso de la autólisis y putrefacción es la producción de amoniaco. En el organismo vivo sería transformado en urea, pero la síntesis de urea supone un consumo importante de energía. Para sintetizar un mol de urea se requieren tres moles de ATP y este cae velozmente en el cadáver desde los primeros momentos post-mortem.

Según SCHELEYER, en las primeras ocho horas las cifras de amoniemia oscilan de 1 a 3 mg %, después esta concentración asciende de modo importante.

Su valor diagnóstico, no obstante, queda muy dudoso y sólo en los casos de intoxicaciones exógenas por vapores de amoniaco y siempre que la toma de sangre se hiciese en las primeras horas, tendría algún valor. La intoxicación endógena por amoniaco se suele producir, en los comas hepáticos, donde se pueden alcanzar cifras de 268 mcg. %.

Otros casos donde puede encontrarse cifras altas de NH_3 es en las hemorragias digestivas, en los Shunt quirúrgicos, en los estados de shock y en el síndrome de REYE, pero en todos los casos, las cifras son inferiores a 1 mg %. Sólo cifras obtenidas dentro de la primera hora post-mortem serían valorables.

Los resultados en L. C. R., son similares y en humor vítreo no han sido estudiados.

ACIDO URICO:

PUCHER, BURD y NAUMANN encuentran hasta las ocho horas post-mortem uricemias entre 5,5 — 6,2 mg %, cifras idénticas a las vitales. En humor vítreo sólo STURNER y col. en 1974, se han ocupado de este parámetro y sobre 44 individuos presumiblemente normales, pues su muerte fue violenta, encuentran que los valores oscilan desde 0,7 a 3 mg %. En 22 casos la media, a las 4 horas post-mortem, era 1,3. En los otros 22 la media, a las 16 horas, fue de 1,5 mg %. Es decir su comportamiento parece bastante estable.

Como conclusión práctica del estudio de este grupo de elementos, que podrían informar sobre la retención de Nitrógeno, hemos de decir que parece más precisa que aquella de los carbohidratos. Hemos de concluir que para la urea, creatinina y ácido úrico, los niveles encontrados en el cadáver hasta las diez horas, reflejan los niveles sanguíneos terminales. Sólo han sido referidas excepciones a esta regla por LEAHY y FARBER, que encontraron en cinco individuos la creatinina y urea elevada en el momento previo a la muerte y luego en el examen post-mortem sólo se evidenció esa elevación en la cifra de urea, pero no en la de la creatinina.

Cifras de urea altas unidas a modificaciones electrolíticas pueden ser un buen indicador de muerte por deshidratación.

Tomando márgenes de seguridad amplios, podríamos decir, que cifras de urea en sangre post-mortem superiores a 140 mg % y 6 mg % de creatinina, con seguridad indican una severa insuficiencia renal. Para humor vítreo, cifras algo más bajas nos permitirían sacar idénticas conclusiones.

Finalmente otra afirmación que cabría hacer es que hoy se demuestra justamente lo contrario que pensaba SCHOURUP, que el Nitrógeno no protéico no puede emplearse en el diagnóstico médico legal de modo indiscriminado, pero el culpable no es ni la urea, ni la creatinina, ni el ácido úrico, sino el amoniaco y las bases púricas.

CROMOPROTEIDOS: Es antiquísima la observación de la hemolisis post-mortem. Cara al diagnóstico post-mortem el componente que más interés puede tener es el A_2 en los portadores de hemoglobinopatías estructurales con presencia de Hb anormales. En el Congreso Internacional de Medicina Legal de Lengua Francesa celebrado en Dijon en 1977, presentamos un trabajo sobre la degradación post-mortem de la hemoglobina. En él establecíamos que la hemoglobina A_2 permanece inalterable hasta muy avanzada la putrefacción. En contraste, la hemoglobina A_1 o componente principal se desdobla pronto surgiendo una banda más ácida y otra más alcalina.

En relación con la Haptoglobina, NIKOLENKO (1977) encuentra variaciones en la tipificación de la haptoglobina post-mortem, en aquellos sujetos que murieron por asfixia. El autor sugiere una po-

sible despolimerización del grupo Hp 2-2 y 2-1 y su transformación.

ENZIMAS.—En la revisión que F. E. CAMPS realizó en 1959 sobre la data de la muerte, expresó su esperanza de que el estudio de los enzimas podría aportar luz sobre el problema. Desde aquel momento hasta el presente, se han publicado muchos trabajos, unos dirigidos hacia la data, otros hacia el diagnóstico de la causa de la muerte. De todos ellos merece especial mención el de ENTICKNAP (1960) quien estudió en 780 cadáveres los siguientes enzimas: Transaminasas, (GOT y GPT), Lactico-desidrogenasa, Fosfatasa ácida y alcalina y Amilasas. Un trabajo similar realiza en 1970 en Brasil, SCHMIDT.

FOSFATASA ACIDA:

ENTICKNAP, mostró un marcado incremento post-mortem del enzima, alcanzando a las 48 horas valores 20 veces superiores a los vitales.

FOSFATASA ALCALINA:

NAUMANN (1956) encuentra un incremento post-mortem y a las 10 horas y media alcanza un valor de 5,3 U. Bodanski (el rango ante-mortem es de 1-4). ENTICKNAP, también encuentra este incremento y el pico máximo es a las 48 horas, donde se alcanzan valores 10 veces los vitales. SCHMIDT encuentra igualmente un ascenso claro a la hora post-mortem, alcanzando a las dos horas 10 UB. COE (1974) establece que los valores en el momento de la muerte, se duplican a las 8 horas y se triplican a las 18 horas.

AMILASA:

Según los estudios de ENTICKNAP (1960) este enzima empieza a incrementarse post-mortem, alcanzando a las 48 horas, valores tres o cuatro veces superiores a los vitales.

TRANSAMINASAS:

La GOT y GPT aumentan progresivamente hasta las 50 horas. ENTICKNAP estudió las transaminasas en relación con la LDH que también asciende de modo progresivo hasta las 60 horas. Encuentra una buena correlación entre los dos enzimas de 0,84.

SCHMIDT y col. (1970) también constatan un aumento rápido a partir de las dos horas post-mortem, manteniéndose durante esas dos primeras horas los valores estables.

LEAHY y FARBER (1967) estudian en el humor vítreo la LDH, GOT, GPT. En todos los casos estudiados encuentran una actividad mínima o nula. En ningún caso encuentran correlación con los valores séricos ante-mortem. Sin embargo, son abundantes los trabajos sobre niveles de LDH en humor acuoso de peces, y es un parámetro utilizado en muchos países (Japón) para determinar la data de la muerte del pescado y en consecuencia si es fresco o no.

COE (1969) encuentra valores extremadamente variables para las transaminasas en el humor vítreo, con valores que oscilan desde 12-205 unidades, tampoco encuentra correlación con los valores sanguíneos. Uno de nosotros, LUNA (1979) en su Tesis Doctoral, estudia los valores de CK y sus isoenzi-

mas, LDH y sus isoenzimas, en el líquido pericárdico, humor vítreo y L. C. R.

Estableciendo los correspondientes estudios de correlación para la CK en los distintos líquidos biológicos, obtenemos:

Lp — suero	—	$r = 0,78$
Lp — L.C.R.	—	$r = 0,68$
Lp — vítreo	—	$r = 0,57$

Para la LDH se encuentra una correlación

Lp — suero	—	$r = 0,82$
Lp — L.C.R.	—	$r = \text{No}$
Lp — vítreo	—	$r = 0,56$

De nuestros trabajos se deduce que en líquido pericárdico también se produce un incremento post-mortem, pero que este incremento es moderado para la CK, influenciada más por la causa de la muerte, y más importante para la LDH que está muy condicionada además por la agonía.

ESTERASAS:

La colinesterasa ha sido estudiada ampliamente post-mortem y son muchos los autores que comprueban que se mantiene constante durante un largo período post-mortem. Así EDSON y col. (1962) encuentran que la colinesterasa se mantiene estable durante 4 semanas si el cadáver se mantiene a temperatura ambiente.

PERRY (1958) en 130 muestras de sangre post-mortem, encuentra que la colinesterasa verdadera

permanece estable y puede almacenarse durante 3 semanas. BARGUELLINI y RIZZATTI (1974) comprueban que la actividad in vitro se mantiene a 4° más de 50 días. La sangre del cadáver obtenida a las 24 horas post-mortem y mantenida a 4° mantiene su actividad más de 30 días, mientras que a 20° empieza a descender desde el primer día y se hace negativa a los 15 días.

MORARH y col (1966), también corroboran esta estabilidad. Los autores establecen que los niveles de colinesterasa se encuentran modificados por el período de agonía. Cuando la agonía es larga el valor medio desciende de 0,59 a 0,26 micromoles/ml., mientras que en la muerte súbita los valores son más altos 1,34 — 0,47 micromoles/ml. ARNASON y BJARNASON (1972), estudian las esterases totales por electroforesis en gel de almidón en muestras post-mortem desde 1/4 a 720 horas, no todas las muestras fueron tomadas en el mismo cadáver. De las 6 fracciones que normalmente se encuentran en el vivo no todas se encuentran post-mortem, algunas desaparecen y una llega a ser más intensa que en el suero ante-mortem, incrementándose hasta las 100 horas post-mortem. El autor atribuye a los enzimas proteolíticos estos cambios.

KOSH y col. (1980) demuestran que en varios tejidos de ratón se produce colina post-mortem, cuando se incubaba a 37°, durante 15 minutos, el cerebro, ojos, corazón, pulmones, hígado, íleo y riñones, con referencia a los tejidos control. La producción se ve afectada igualmente por el pH. Este incremento, evidentemente tiene un origen enzimático en el que la colinesterasa y pseudocolinesterasa deben estar involucradas, siendo los sustratos los fosfolípidos y la acetil-colina.

BURLINA y LIPPI estudian el comportamiento de

la aldolasa por técnicas bioquímicas e histoquímicas. El trabajo es sobre animales de experimentación y cuando conservan las ratas a 0° la actividad se mantiene 24 horas con un leve descenso. Cuando mantiene a las ratas a la temperatura ambiente se produce una caída global y a las 12 horas es negativa.

LANCKER y HOLTZER en un minucioso estudio sobre el comportamiento enzimático en la autólisis, investigan la fosfatasa ácida, la glucuronidasa, citocromoxidasa y glucosa-6-fosfato-D intracelular y libre. La fosfatasa ácida y la glucuronidasa intracelular aumentan en el período post-mortem hasta un 82% en dos horas. La glucosa-6-P disminuye levemente, igual que la citocromoxidasa. El P sigue un incremento logarítmico, mientras que la fosfatasa crece en proporción aritmética. AGAFO-NOV (1976) estudia la actividad ATPasica del cerebro post-mortem y encuentra una buena actividad enzimática.

NANIKAWA y col. (1962) estudian la actividad sucínico-deshidrogenasa en 82 corazones y encuentran una caída progresiva desde el primer día. Si los corazones se mantienen entre 0-10° la actividad SDH persiste 30 días.

KLEIN y col. (1962) estudian la actividad post-mortem de la ADH en hígado humano. Los autores encuentran valores que oscilan desde 2 a 100 E/mg de proteína. La ADH disminuye post-mortem, pero el descenso se ve más influenciado por la temperatura del cadáver, que por el tiempo transcurrido.

PENTILA y AHONEN (1976) combinando métodos histoquímicos y de microscopía electrónica, estudian el comportamiento de algunas enzimas en el curso de la autólisis del corazón de rata. La acti-

vidad fosforilasa dura pocas horas, mientras que en otros enzimas se prolonga más de cuatro días. La MAO y la SDH eran normales a los 8 y 12 días. A los 20 días no había actividad enzimática. En contraste con otras opiniones, la mitocondria es el órgano más resistente a la desorganización autolítica. El descenso de la fosforilasa coincide con la caída del glucógeno. La actividad de los enzimas MAO, SDH y citocromoxidasa no estaban relacionadas con la integridad de la mitocondria, sino con la estructura del músculo.

STURNER y SUSA (1980) han estudiado la actividad post-mortem de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa en relación con la muerte súbita del niño, sin resultados significativos.

OEHMICHEM (1980) realiza una revisión de la actividad enzimática cerebral post-mortem. Encuentra que las más estables son las fosfatasa, glutamato-deshidrogenasa, fosfofructoquinasa. Las menos estables malato-deshidrogenasa y la trifosforidina nucleótidotetrazolium reductasa. Para el autor el intervalo útil es de 6-8 horas post-mortem para estudios cuantitativos y hasta 48 horas para estudios cualitativos.

KOZIK (1981) investiga la actividad post-mortem de algunos enzimas que intervienen en la respiración de la célula cerebral. Estudia la actividad deshidrogenasa de 41 cerebros humanos. El método empleado es el histoquímico y lo realiza en secuencias de 1, 4, 6, 12, 18 y 24 horas después de que la muerte clínica fuese establecida. Los resultados indican que la inactivación sigue una secuencia diferente. Los primeros en inactivarse son la succinico y lacticodehidrogenasa, después la glucosa-6-P y la β -hidroxibutirato deshidrogenasa, isocitrato, NADH

y NADPH reductasa dependientes. La α -glicerofato deshidrogenasa queda activa un largo período después de la muerte. La secuencia del descenso de la actividad de las deshidrogenasas respiratorias es opuesta al modo de como ellas aparecen durante el desarrollo ontogénico del cerebro.

SCHONING y col. (1980) se han ocupado de investigar en su conjunto aquellos enzimas que podrían ser válidos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. Estudia, en una serie experimental sobre 60 perros, los niveles de lipasa, amilasa, fosfatasa alcalina, γ -glutamyl-transpeptidasa y alanina-aminotransferasa (AAT) en suero y AAT y fosfatasa alcalina también en líquido cefalorraquídeo. Los intervalos post-mortem fueron 36, 12, 24 y 48 horas a distintas temperaturas, 4, 20, 37° C. Los niveles de amilasa quedan estables a 4 y 20° hasta 48 horas y podrían ser empleadas en el diagnóstico de la pancreatitis. La lipasa es bastante estable, por lo que podría ser un valor complementario del anterior.

La AAT sérica se eleva con el intervalo post-mortem y con la temperatura, a las 3 horas a 4° C ya hay una diferencia de 358 mn/ml. y a 37° C 955, a las 12 horas las diferencias son de 2.315 y 19.989 respectivamente.

La γ -glutamyl-transpeptidasa no se detecta ya a las tres horas en la mayoría de los grupos estudiados. Como síntesis de lo expuesto cabe decir que un grupo importante de enzimas: fosfatasa ácida, alcalina, transaminasas, lácticodehidrogenasa, γ -glutamyl-transpeptidasa, alanina-aminotransferasa, sufren modificaciones importantes que impiden su utilización con fines diagnósticos.

Otras, aunque sufren modificaciones, sí pueden em-

plearse con fines diagnósticos, tal es el caso de la amilasa-lipasa, succinico-deshidrogenasa, creatinquinasa.

Otras no sufren modificaciones, tal es el caso de la colinesterasa que permanece estable durante largos períodos y permite su utilización en el diagnóstico de la intoxicación por insecticidas fosforados orgánicos. El incremento global de los valores enzimáticos post-mortem ha sido utilizado, como un signo de muerte cierta. Así KERENYI y SARKOZ (1974) proponen la dosificación de CK en líquido amniótico para verificar la muerte del feto y su no viabilidad. VOISIN y col. (1975), estudian la concentración de GOT, LDH y fosfatasa alcalina en líquidos cefalorraquídeos en los comas depasé, incrementos masivos de estos enzimas demostrarían una muerte cerebral irreversible.

Los trabajos recientes de LYTHOGOE (1980) han venido a confirmar que en los estudios enzimáticos el lugar de la toma tiene a veces gran transcendencia, encontrándose diferencias significativas entre los valores en sangre del ventrículo derecho, izquierdo y sangre venosa periférica. Estas últimas, como ya se ha indicado como regla general, se asemejan más a los valores del momento último de la vida.

LIPIDOS.—Son pocos los trabajos consagrados a este capítulo. DELL'ERBA y SANTINI estudian la lipemia, fosfatidemia, colesterol libre y esterificado y grasas neutras. De este estudio podemos sacar en conclusión que los lípidos totales aumentan a partir de las 6 horas post-mortem y descienden después de 30. BERG ha observado que durante la agonía se produce un vaciamiento de los órganos ricos en fosfolípidos, como el bazo, a la sangre y en consecuencia la tasa sérica aumenta.

El colesterol ha sido ampliamente estudiado. NAUMANN (1965) y ENTICKNAP (1961) han demostrado que el colesterol no sufre modificaciones post-mortem; para NAUMANN los valores medios post-mortem son ligeramente más elevados, mientras ENTICKNAP los encuentra más reducidos. NAUMANN encuentra que los ésteres del colesterol están muy disminuidos a consecuencia de la gran actividad esterásica de la sangre post-mortem. Por ello opina que no pueden ser empleados como test diagnóstico de la función hepática.

ENTICKNAP (1961-1962) estudió también el comportamiento de los ácidos grasos libres, lipoproteínas y β -lipoproteínas y encuentra que todos eran marcadamente estables post-mortem, sufriendo una pequeña degradación autolítica del 0,5% hora. FRANGE (1975) estudia el metabolismo post-mortem de los triglicéridos y encuentra que su desintegración comienza después de las 36 horas y produce un incremento de ácidos grasos saturados. La tasa de degradación de los glicerofosfátidos era aproximadamente del 50% entre el tercer y sexto día. Los productos de descomposición encontrados eran ácido oléico, linoléico y araquídico. El Plasmalógeno se descompone en lisocefalina y aldehídos. El predominio de ácidos grasos insaturados sobre los naturales indica una procedencia de glicerofosfátidos. El fosfato de esfingosina, el colesterol y los ésteres del colesterol no sufren modificaciones durante la autólisis en 12 días.

OLIVEIRA DE SA (1965) en su Tesis Doctoral estudia, entre otros parámetros, el comportamiento de los lípidos del cerebro de cobaya. Encuentra un aumento de los lípidos totales a partir de las 164 horas.

En las fracciones lipídicas hay un descenso significativo de fosfolípidos y un aumento de ácidos gra-

tos libres. Por cromatografía en placa fina demuestra, un incremento en cerebrósidos a partir de las 340 horas, un descenso de cefalinas desde el primer momento y de lecitinas desde las 48 horas.

Los autores japoneses han prestado atención en los últimos años a este tema y así ISHIHARA (1977) se ha ocupado del comportamiento de los fosfátidos en el curso de las asfixias, tanto en los animales de experimentación (conejos), como humanos (asfixias del lactante y adultos).

En las asfixias del conejo se encuentra un ascenso, que es máximo para la sumersión. En relación con la fase asfíctica, las cifras más altas se registran cuando aparece la convulsión.

En los humanos los valores son más altos en la sangre venosa que en la arterial y los valores en ventrículo derecho más altos que los del ventrículo izquierdo; para que este dato resulte significativo habría que encontrar una diferencia entre ellos de al menos 1,7 mg/ml.

La estabilidad post-mortem de los lípidos permite su utilización médica legal con fines diagnósticos. El colesterol puede ser evaluado como en el sujeto vivo.

Igualmente ocurre con la bilirrubina, que aunque experimenta un pequeño aumento (de 0,82 ante-mortem, a 1,52 a las 19 horas post-mortem) sería válido para hacer un diagnóstico de ictericia.

Mayor valor tiene el estudio de los lípidos totales y de las fracciones lipídicas en los casos de embolias grasas. POLLAK y col. (1981) refieren que en los casos de quemaduras, donde encuentran un embolismo pulmonar graso con relativa frecuencia, 7 de 18 casos mortales, 4 de grado ligero y 4 de grado mediano, los estudios de los lípidos del pul-

món mostraron un incremento de la fracción de triglicéridos, frente al grupo que servía de control, que eran embolismos grasos post-fractura, donde no se alteraron.

HORMONAS.—Las dificultades analíticas que las hormonas presentaban han contribuido, quizás, a que sea un capítulo poco estudiado, estando en los momentos presentes en su iniciación.

En la revisión de SCHELEYER (1963) y la de OLIVEIRA DE SA (1965) no se hace referencia a las hormonas.

En 1927 MOURIQUAND y LEULIER se interesan por el estudio de la Adrenalina y sólo constatan su rápida destrucción en la médula suprarrenal. GONZALEZ PIERA en su Tesis Doctoral abordó el tema de los 17 cetosteroides, e igualmente ELIAKIS (1974), ambos en relación con la agonía, constatando que los 17 cetosteroides no se modifican con la autólisis, aunque sus cifras basales se ven muy influenciadas por la causa de la muerte y la duración de la agonía. Más recientemente han comenzado a aparecer trabajos en este campo, empleando técnicas analíticas más modernas, como el inmunoensayo (RIA y EMIT) y la fluorimetría.

ADRENALINA Y NOR-ADRENALINA.—Fue LUND (1963 y 1966) el primero en estudiar las catecolaminas en el campo médico-legal. S. BERG realizó similares estudios años después. LUND estudió 14 casos de muerte «súbita», 6 de ellos eran por lesiones de tráfico y 8 de causa circulatoria. La técnica analítica fue la fluorimetría y las cifras normales en vida fueron 1 gamma por litro para la Adrenalina y 2 gammas por litro para la Nor-Adrenalina. Comparando ambos grupos encuentra que la Nor-Adrenalina fue igual, en cambio la Adrenalina es significativamente más baja (97%) en el grupo de las muertes

violentas. La media de catecolaminas totales fue de 67 gammas por mil en muertes súbitas y 39 en violentas. Estos niveles son comparables a los encontrados por el autor en un caso de intoxicación yatrogénica por Adrenalina (51 gammas por cien) y mayores que los encontrados en un caso de feocromocitoma (126 gammas por cien).

Las catecolaminas se están estudiando en distintas direcciones y quizás una de las vías más interesantes sea la relativa al daño cerebral, como después veremos.

JIMENEZ RIOS en su Tesis Doctoral, desarrollada en nuestro Laboratorio, estudia las catecolaminas en líquido pericárdico en función de la causa de la muerte y del proceso agónico. En 120 muestras de líquidos pericárdicos agrupados en 8 tipos de muertes, no encuentra diferencias significativas entre la causa de muerte y catecolaminas totales. Ello se debe a la gran dispersión de los valores, con desviación standard muy amplias. Los valores más altos de Adrenalina se encuentran en las intoxicaciones, infartos de miocardio y politraumatismos. No obstante, las cifras de Adrenalina en líquido pericárdico son más bajas que las encontradas por otros autores en suero. Ello quizá encuentre su explicación en que el corazón tiene fundamentalmente receptores β que consumirían mayor cantidad de Adrenalina.

En relación próxima con las catecolaminas se encuentra la serotonina, que ha sido estudiada en nuestro Laboratorio por LUNA. Estos trabajos están encaminados a esclarecer el papel que esta amina biógena pueda jugar en la agonía y en cierto tipo de muertes. Nuestros trabajos se han dirigido a estudiar el comportamiento post-mortem en sangre, líquido cefalorraquídeo y líquido pericár-

dico, de la serotonina y de su principal metabolito, el ácido 5-H. I. A.

En suero, la serotonina se incrementa con la data, dependiendo este incremento de la hemolisis. Existe una correlación significativa entre serotonina y hemolisis ($r = 0,58$).

El ácido 5-H. I. A. no se detecta en suero y sí en líquido pericárdico. Fuera de la hemolisis, no hay correlación entre data, 5-H. T. y 5- H. I. A.

El líquido pericárdico es por tanto el fluido biológico más idóneo para el estudio de las aminas biógenas y sus metabolitos.

En relación con la causa de muerte, se encuentra una respuesta inespecífica de la serotonina, que aumenta en muchas causas de muerte. En un trabajo experimental, complementario del anterior, realizado con perros a los que le provocamos un shock séptico y otro hemorrágico, se demostró que la serotonina se elevaba en el suero rápidamente, alcanzando a las 3 horas valores tres veces los basales. Si simultáneamente con la serotonina medimos otros parámetros, tales como: presión arterial, presión de O_2 , de CO_2 , proteínas totales, se observa que sólo en los casos del shock hemorrágico hay una alta correlación ($r = 0,82$, $p < 0,01$) entre valores de serotonina y presión arterial.

La serotonina resultó ser un parámetro muy interesante, para explicar el fenómeno agónico, tema del que nos ocuparemos después.

CORTISOL.—FINLAYSON (1965) estableció que el cortisol quedaba estable durante las primeras 18 horas post-mortem.

COE (1973) estudió la Tiroxina (T4) y TSH en una serie de cadáveres. La T4 tiende a caer ligeramente

Se ha señalado que la insulina puede modificarse en cierto tipo de muertes, además de la diabetes. LUNDQUIST en un suicidio por antidepresivos tricíclicos encontró valores de 2.400 mcu/ml. en aurícula derecha y 179 en femoral.

PHILLIS (1972) y DICKSON (1977) han puesto a punto una técnica para dosificación de insulina tisular post-mortem.

OKSANEN (1976) llama la atención sobre los errores que se pueden cometer en la dosificación de insulina por R. I. A. En el suero de los enfermos tratados con insulina hay anticuerpos antiinsulina; el suero contiene pues, insulina libre, anticuerpos ligados a la insulina y anticuerpos libres.

Los anticuerpos libres compiten con los añadidos exógenos y la lectura final del contador puede ser afectada. El autor propone eliminar los anticuerpos previamente a la dosificación.

ELECTROLITOS.—El papel que los electrolitos pueden jugar como causantes de la muerte o coadyuvantes de la misma, no ha sido suficientemente esclarecido, si bien hoy se apuntan alteraciones electrolíticas en diversos cuadros mortales. Así, COE (1972) encuentra junto a una retención de urea una hipernatremia en la deshidratación mortal. Se citan, igualmente, alteraciones de Sodio y Cloro en el humor vítreo en casos de muertes de niños y adultos abandonados y depauperados. Descenso de Cloro y Sodio se han observado en casos de muertes súbitas del niño, en algunos pacientes alcohólicos con degeneración grasa del hígado, y en casos de obstrucción pilórica con vómitos repetidos.

Todo ello y el interés que suscita su aplicación al diagnóstico de la data, justifican un estudio por menorizado de los mismos.

te, aunque la razón de la caída es individual, errática, alcanzando en algunos casos, sin enfermedad tiroidea, valores propios de hipotiroidismo. Los valores de la TSH son más estables y muestran menos variación, permaneciendo inalterables durante 1-2 días post-mortem.

SIMSON y col. refieren la posibilidad de empleo, para el diagnóstico post-mortem, de la P. B. I. yodoproteína y la T4 en el diagnóstico de la Tirotoxicosis.

INSULINA.—Ha sido investigada en suero y bilis por STURNER y PUTNAN (1972) y encuentran valores que van desde 0 a 200 microunidades por mililitro. En 22 de 25 casos, los niveles estaban por debajo de 100. En 3 casos de cadáveres, diagnosticados de diabetes y que se inyectaban insulina, los valores estaban entre 100 y 200. LUNDQUIST (1972) y LUNDQUIST y RAMMER (1975) demuestran que los valores de insulina post-mortem eran mayores que en vida y que el lugar de la toma tiene una importancia decisiva. En 43 cadáveres, no diabéticos, la concentración media en la sangre de corazón derecho fue de 187 mcu/ml. (rango 7-590). En las muestras obtenidas en el corazón derecho los valores son 10 veces más altos, como consecuencia de su conexión con el páncreas.

La Dra. RODRIGO ha estudiado por R. I. A. los valores de insulina en 90 muestras de humor vítreo en relación con la data y con distintas causas de muerte, no encontrando diferencias significativas con ninguno de ambos parámetros. Tampoco en tomas secuenciadas en ambos ojos. La insulina parece un valor estable post-mortem, y debe investigarse en todos los sujetos diabéticos fallecidos y sometidos a terapéutica con insulina, cuando la muerte ofrezca la más mínima sospecha.

SODIO:

En suero ha sido investigado por JETTER en 1959, quien considera que los valores permanecen constantes durante las primeras 12 horas, después de crece. SCHMIDT (1970) encuentra valores estables de sodio durante las primeras 20 horas y después asciende, según este autor sigue un camino paralelo al cloro.

En humor vítreo NAUMANN (1959) encuentra valores que oscilan desde 118 — 154 mEq/l. con una media de 144.

COE (1969) encuentra que el sodio era extremadamente estable en el intervalo post-mortem de las primeras horas y en una serie de 145 individuos los valores medios encontrados variaron desde 135 a 151 mEq/l., con una media de 143. En una serie de enfermos con trastornos electrolíticos, el autor encuentra, que valores superiores a 155 e inferiores a 130 reflejan un estado de hiper o hiponatremia en el momento de la muerte.

Nosotros en un estudio sobre 100 cadáveres de distinta procedencia encontramos una media de 184,94 mEq., sin que exista correlación alguna en función del intervalo post-mortem ($r = 0,0369$).

En conclusión estimamos que el lugar más idóneo para investigar el sodio es el humor vítreo, donde se reflejan los estados patológicos y no sufren modificaciones post-mortem.

CLORO:

JETTER (1959) observa una caída del cloro plasmático con paso a la célula. La concentración me-

día es de 80-90 mEq a las 24 horas post-mortem. Ya en 1935 SOUTER había hecho una observación semejante. La diferencia cloro plasmático/cloro globular que en el vivo es de 1,3 en el cadáver es como máximo de 0,7 y los valores medios de 0,2. Hay una tendencia a igualarse ambos sistemas por difusión del cloro plasmático a la célula. SCHELEYER establece que el descenso se produce a un ritmo de 0,25 a 1 mEq/hora; según COE el descenso sería de 0,95 mEq/hora.

Para SAROIU el descenso, aunque irregular, es más intenso, 9,51 mEq en las primeras 24 horas.

Existe por tanto una opinión mayoritaria de descenso del cloro plasmático post-mortem, y salvo la opinión de SCHMIDT, para quien el cloro se mantiene estable, con ligeras oscilaciones, hasta las dos horas en que experimenta una subida siguiendo al sodio.

NAUMANN en humor vítreo encuentra valores medios de 114 mEq, para LEAHY y FARBER los valores oscilan desde 108 a 142 mEq, en una serie de 32 personas todas ellas con valores normales de cloro antes de morir. COE, encuentra valores entre 104 y 132, con una media de 120. Para el autor, el cloro queda constante al menos 18 horas.

En nuestro trabajo hemos obtenido un valor basal de 125,25 mEq/l., y que no existe correlación entre la tasa de cloro y el intervalo post-mortem. No obstante, cuando se realizan en el mismo cadáver dos tomas, una en cada ojo, para evitar fenómenos de dilución o concentración, se observa un ligero ascenso.

Nuestros valores de base coinciden con los señalados por COE, 121 y por STURNER, 115-125, y son superiores a los admitidos para el suero del sujeto vivo.

CALCIO:

Según JETTER, NAUMANN, SCHMIDT, SAROIU, el calcio en sangre no se modifica en las primeras 48 horas. En el trabajo de NAUMANN, sobre valores electrolíticos en L. C. R. encuentra que el calcio prácticamente tampoco se modifica, 2,5 ante-mortem frente a 2,4 post-mortem.

En el humor vítreo NAUMANN, en una serie amplia de 211 casos en un intervalo medio post-mortem de 9 horas, encuentra un valor medio de 7,2 mg %. COE encuentra en su serie, que el calcio permanece constante en las primeras horas, y los valores obtenidos varían desde 6 a 8,4 mg. con una media de 6,8. Este autor hace la observación, que algunos enfermos que murieron con cifras de hipocalcemia, ésta no se registró después en el vítreo. STURNER encuentra valores similares y observa (1972) que valores inferiores a 4 mg % deben considerarse patológicos. El autor ha constatado, que en casos de traumatismos severos y algunos de muertes súbitas se encuentran cifras bajas de calcio.

Nosotros encontramos una estabilidad del calcio hasta las 28 horas post-mortem, donde empieza a subir, para descender a las 48 horas. Los valores de partida de nuestra serie, obtenidos por análisis de absorción atómica, son de 6,75 mg %, con una línea de regresión cuya ecuación es: $y = 0,0787x + 6,75$. Es decir que los valores de la pendiente son tan bajos que puede considerarse que el calcio post-mortem es estable.

En un trabajo más reciente de mi equipo, la Profesora CASTELLANO estudia el Ca en suero, en distintas causas de muerte; no encuentra diferen-

cias significativas en las mismas, ni existe correlación con el tiempo de agonía.

LUNA, tampoco ha encontrado diferencias significativas en el líquido pericárdico en distintas causas de muerte.

Para una misma causa de muerte —infarto— sí hay diferencias significativas en relación con las agonías cortas $<10'$ y largas >6 horas, donde el Ca se encuentra aumentado con una media $\bar{X} = 13,91$ mg%.

MAGNESIO:

Según JETTER, los valores en suero no se modifican si no hay hemolisis. En L. C. R. según NAUNANN aumenta ligeramente de 2 a 2,9 mg %.

En vítreo, STURNER (1972) en una serie de 24 adultos encuentra un rango de 1,5 — 2,5, y para otra serie de 20 niños de 2 a 3,9 mg %.

Nosotros no encontramos modificación del Mg post-mortem en las primeras 30 horas. El valor base es de 2,4321 y la línea de regresión $y = 0,0075x + 2,43$.

La Profesora CASTELLANO en suero de cadáver encuentra valores mucho más altos que los de JETTER, entre 6,66 y 4,74 mg % con SD de 1,3. No hay significación con relación a las causas de muerte. Los valores de A. LUNA en líquido pericárdico también son mayores a los encontrados en otros humores, entre 4,24 — 3,65 con SD altas de 1,49. No encuentra diferencias significativas en relación con la causa de la muerte. Sólo el trabajo de CADDELL y SCHEPPER (1978) encuentran significación diagnóstica para el Mg en vítreo en

los casos de muerte súbita del lactante de animales de experimentación con dieta pobre en Mg.

ZINC Y COBRE:

Han sido estudiados por mi equipo a nivel de sangre y líquido pericárdico.

En el Zinc, M.^a CASTELLANO encuentra diferencias significativas en relación a distintas causas de muerte. Está muy elevado en infartos de miocardio y ahorcaduras y bajo en las embolias y anoxias. El Cobre se modifica con las causas de muerte. LUNA en líquido pericárdico, no encuentra diferencias significativas en las distintas causas de muerte.

FOSFORO:

Modernamente sólo ha aparecido el trabajo de FURUNO (1976) que determina el fósforo inorgánico en humor acuoso y encuentra que el fósforo puede ser útil para la data si se ponen en relación con la temperatura corporal, fenómeno que ya había demostrado su compatriota OKUBO (1959).

POTASIO:

Ha sido ampliamente estudiado, en relación con la data, en virtud a su ascenso más o menos lineal. Nosotros en humor vítreo hemos encontrado una ordenada en el origen de 5,89 mEq/l. Cifra que puede considerarse el valor normal, en el momento cero de partida. Para ADELSON es algo más baja, 5,36, y para ADJUTANDIS aún más, 3,4. Nos

cuesta aceptar esta última cifra como posible, ya que casi todos los autores hemos encontrado valores superiores a 5 mEq/l. en el momento cero, de este modo se invalida la utilización de este parámetro con fines diagnósticos, pues desde el primer momento se encuentran valores anormales.

En conclusión, salvo los niveles de potasio y fósforo, que se incrementan rápidamente después de la muerte, los otros son estables en las primeras horas y pueden ser valores post-mortem.

COMPOSICION DE LOS GASES POST-MORTEM:

Es evidente que muchos procesos patológicos se evalúan en función de los valores de gases en sangre. Todos los procesos cardio-respiratorios son susceptibles de alterar estos parámetros y secundariamente el equilibrio ácido/base y el pH.

Dado que el pH se acidifica rápidamente, y como demostró LOPEZ-GOMEZ, ya a los cuatro minutos alcanza el valor 7 en la lágrima, medido con un potenciómetro, que los procesos autolíticos y putrefactivos se instauran pronto y que como consecuencia de la parada respiratoria la anoxia es total, este campo ha sido poco explorado y sin conclusiones, pese a que en orden a determinar ciertos tipos de muertes el análisis de gases en el cadáver puede ser esencial.

Como comentario general de este capítulo podemos decir, que el lugar de la toma es importante para la glucosa e insulina, ya que existen grandes diferencias entre que la muestra se tome en sangre de corazón derecho o de sangre periférica. Ya hemos expuesto ampliamente nuestro criterio de que

el humor vítreo es el mejor lugar para la mayoría de los elementos bioquímicos, a excepción de los enzimas que se encuentran en baja concentración. Es de fácil acceso, se puede obtener una cantidad suficiente (2 ml. de cada ojo), no se influyen tanto por los cambios agónicos, no sufre la contaminación bacteriana y se afecta poco por los factores ambientales, no se contaminan por la sangre y los cambios post-mortem acontecen de un modo más gradual. Según STURNER y nosotros mismos, el humor vítreo puede guardarse congelado más de 20 meses, sin que sufran alteraciones sus componentes.

LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS EN LA RESOLUCION DE LOS PROBLEMAS MEDICO LEGALES QUE PLANTEA LA MUERTE

Ya hemos expuesto, que no siempre el diagnóstico de la causa de muerte es el tema nuclear de la autopsia. Tres son los problemas «que eventualmente podrían reemplazarlo en importancia» y en todos ellos, como luego veremos, la tanatoquimia está haciendo aportaciones fundamentales. El primero, es previo a la obducción, pero es un acto que concierne a la autopsia judicial, los otros dos son en el curso de la obducción. Me refiero al diagnóstico de la muerte cierta, la data y el diagnóstico de la agonía.

El diagnóstico de la muerte cierta, sigue siendo el tema transcendente de siempre, pues con él borramos oficialmente a las personas del mundo de los vivos, aunque su corazón lata con fuerza. Si siempre tuvo trascendencia, hoy, cuando ha de hacerse con premura porque aguarda ansioso y esperanzado un posible receptor de un trasplante, tiene mucha más. De ahí que no ceemos en perfeccionar este medio diagnóstico, cuyas últimas aportaciones invaden el campo bioquímico.

La data de la muerte, a la que recientemente he dedicado una monografía, es el punto de partida de toda encuesta policial. ¡Cuántos criminales escaparon a la acción de la justicia por una coartada basada en la data de la muerte mal establecida y cuántos inocentes fueron procesados y quizás ajusticiados por la misma causa!. La culpabilidad de una persona no puede basarse hoy en una prueba que se realiza sin medios técnicos y con una subjetividad espeluznante. La tanatoquimia ha hecho aportaciones importantes a este capítulo y ha contribuido a precisarlo algo más, capítulo que como un reto, que ORFILA consideraba como una empresa fuera del alcance del hombre, sigue desafiando a todos los científicos que a él dedicaron su tiempo y su sabiduría.

Las docimiasias de agonía, empleadas ya desde antiguo para dilucidar si la muerte fue rápida o lenta, se han enriquecido igualmente con el progreso de la tanatoquímica.

A) MUERTE CIERTA:

El equipo del Prof. LAZORTHES presentó al Congreso Internacional de Lieja (1974) un trabajo sobre el diagnóstico precoz de la muerte cerebral, en el incluía el estudio de parámetros bioquímicos. El parámetro valorado es una diferencia arteriovenosa de O_2 inferior a 2 volúmenes. Sin embargo, en comas traumáticos prolongados, pueden alcanzarse cifras próximas a 2 volúmenes, por lo que los autores no le dan valor absoluto. Mayor interés tiene el estudio del cociente respiratorio cerebral, que al ser exclusivamente a base de glucosa es 1. Este cociente CO_2/O_2 varía poco en el vivo, mientras que en los casos de muerte cerebral, el cociente se altera profundamente y los valores son anárquicos pudiendo registrarse valores desde 0,40 a 2,50.

En conclusión, si la diferencia arteriovenosa del O_2 , es igual o menor a 2 volúmenes y el cociente respiratorio mayor o igual a 1,5, o menor o igual a 0,7, hay una fuerte presunción de muerte cerebral.

B) AGONIA:

Hasta los trabajos de LAVES (1965) el tema de la agonía había sido muy pobremente tratado por los médicos legistas. El interés de su estudio puede ser muy concreto, como es la conmonencia en el ámbito del Derecho Civil, o más amplio, cuando se pretenda saber el mecanismo de ciertas muertes, si fueron rápidas o lentas. Es un error, bastante generalizado, el aceptar como lesiones incompatibles con la vida y por tanto etiquetarlas como

causantes de muertes fulminantes, muchas que luego se demuestran que no lo fueron.

En algunos casos, el punto clave a resolver en la autopsia puede ser saber si la muerte fue rápida o lenta, o si hubo o no sobrevivencia a la lesión.

Todas las pruebas propuestas para estudiar la agonía o Docimias de Agonía, como tan acertadamente las llama el Prof. GIBBERT, se basan en técnicas bioquímicas. La más antigua, quizás, sea la propuesta por LACASSAGNE y MARTIN, consistente en estudiar el contenido del glucógeno hepático. Con posterioridad ALVAREZ DE TOLEDO (1915) y GIBBERT volvieron a insistir sobre el tema. El fundamento sería que en condiciones de sufrimiento agónico el organismo forzaría la glicolisis. En los procesos en que la agonía es de larga duración todo el glucógeno se habrá agotado. La prueba tiene múltiples errores, pues, la causa de la muerte antes, y los procesos post-mortem después, introducen muchas variantes.

LAVES ha precisado la serie de reacciones que se producen en este momento y que pueden sintetizarse con el nombre de AGONOQUIMIA, auténtico «pathway» de la agonía. En sus puntos más cardinales tendríamos los siguientes: la anoxia dispararía el dispositivo de alarma, tal y como lo expusiera SELYE, con una producción de catecolaminas y sustancias presoras capaces de aumentar la presión arterial, como la serotonina e histamina.

Para esta emergencia, se precisan altas concentraciones de combustibles que se suministran del glucógeno, fosfatos inorgánicos y ácidos grasos. El ciclo de EBDEN debe funcionar a gran ritmo, de ahí, las altas actividades de LDH encontradas por LUNA en íntima relación con el proceso agónico. La consecuencia es la acumulación de ácido láctico, que ya se aprecia en los primeros momentos post-mortem.

Sobre esta base teórica, hemos estudiado en líquido pericárdico los factores que intervienen en este proceso y hemos comprobado que las catecolaminas, serotonina, histamina y LDH, suministran una información precisa del fenómeno agónico y sus modificaciones pueden ser empleadas con estos fines.

C) DATA DE LA MUERTE:

Recientemente hemos dedicado una monografía a este importante tema por lo que en este momento no haremos mención del mismo.

D) DIAGNOSTICO POST-MORTEM:

Ya hemos señalado a lo largo de este trabajo como el ensayo bioquímico puede ser pieza clave en unos casos y valiosos colaboradores en otros. En este momento nos vamos a ocupar sólo de aquellos progresos más novedosos que se han alcanzado en los distintos campos de la Patología Forense.

ASFIXIAS.—

Los trabajos más importantes son los de la escuela japonesa de SAWAGUCHI e ISHIHARA que han centrado sus observaciones sobre el metabolismo lipídico, de los carbohidratos y alteraciones enzimáticas. En las asfixias experimentales se constata un aumento de los ácidos grasos libres y de fosfátidos y un descenso de triglicéridos. En el campo de los enzimas encuentran un aumento de LDH, Aldolasa y GOT en sus dos variantes: GOTs y GOTm.

LUNA en líquido pericárdico encuentra, igualmente, que la

LDH se eleva mucho y de sus isoenzimas la F4 es la que más se modifica en los procesos asfícticos.

Dentro de las asfixias, la sumersión es un capítulo que recibe continuas aportaciones. El principio es siempre el mismo: la dilución que la sangre del ventrículo izquierdo experimenta frente a la del ventrículo derecho; las novedades las encontramos en los métodos empleados para poner de manifiesto este fenómeno y desde los más clásicos, como la osmolaridad, concentración iónica medida por fotometría de llama y absorción atómica, peso específico de la sangre, etc. se ha recorrido un amplio camino.

INFARTOS DE MIOCARDIO.—

La muerte súbita del adulto joven es el tema que hoy preocupa más a los patólogos forenses. La trascendencia jurídica y social que este problema plantea, justificó que el XXXVI Congreso Internacional de Medicina Legal que se celebró en Granada en 1980 se ocupase monográficamente de este tema.

Como es de todos sabido, la etiología más frecuente de este tipo de muertes es el infarto de miocardio y aunque este cuadro puede ser bien reconocido post-mortem cuando es secundario a una arterioesclerosis coronaria con una evolución más o menos larga, puede precisar exámenes complementarios cuando el cuadro se instaure de modo brusco y conduce a la muerte antes de que se establezcan alteraciones anatomopatológicas claras. Por ello, hemos dirigido nuestra atención investigadora hacia este problema, que tiene un indudable interés práctico. En el momento en que se produce la necrosis celular miocárdica una serie de elementos abandonan la zona necrótica y pasan al tejido intersticial y luego al suero. Entre ellos tenemos, los enzimas y la mioglobina. De otra parte, se produce una lesión de la membrana celular que determina una alteración en la relación iones intra y ex-

tracelulares. Basado en estos principios, el infarto de miocardio se diagnostica hoy en clínica, entre otros datos, apoyándose en la dosificación de CK, LDH y mioglobina sérica y urinaria. Es más, las elevaciones de CK en suero son el mejor índice para establecer el tamaño de la necrosis. Además de la CK y la LDH, se han ensayado la arginasa, glicogenofosforilasa y adenilato-quinasa.

En nuestras investigaciones hemos seguido esta vía, pero en vez del suero, donde ya hemos visto las dificultades o el humor vítreo donde las concentraciones son más bajas, lo hemos hecho en el líquido pericárdico. Este líquido, recoge igualmente a todos los elementos que abandonan la zona de necrosis. Así hemos podido ver como la CK se eleva de modo extraordinario en los casos de muerte por infarto, alcanzando valores cinco veces superiores a los encontrados en suero. No obstante, la creatin-quinasa del músculo cardíaco no es específico de este y en cualquier otro proceso que se acompañe de lesiones musculares, también se elevará. Así, en nuestros trabajos la hemos encontrado elevada en procesos pulmonares y traumatismos de diversa índole. Estos hallazgos nuestros han sido corroborados por otros centros como el Instituto de Medicina Legal de Roma que dirige el Prof. FIORI. Con el fin de mejorar la especificidad del test, más recientemente, hemos estudiado, con CARMONA y LUNA, las isoenzimas de la CK: CK-MM; CK-MB; CK-BB, empleando una técnica de separación cromatográfica en columna con DEAE-AGAROSA.

Los resultados encontrados en el grupo de muertes por infartos fueron los siguientes: la fracción CK-MB representó el 18,71% frente a un 14,19% del grupo más inmediato, el de los traumatismos de tórax, lo que da una significación de $p < 0,001$. Cuando se emplean los isoenzimas se consigue que el estudio sea significativo para el infarto frente a otras causas de muerte que cursan con lesión muscular, cosa que no ocurre cuando sólo se emplea la concentración de la CK total. Creemos que el estudio de este parámetro es un excelente me-

dio diagnóstico, fácil de ejecutar, con una alta sensibilidad y especificidad y una excelente correlación con el test del Neotetrazolio, test enzimático macroscópico que evidencia la ausencia de actividad succínico-deshidrogenasa en la zona necrótica.

En esta misma línea, en paralelismo con la clínica, estamos estudiando ahora las concentraciones de mioglobina en líquido pericárdico, cuyos primeros resultados confirman el mismo comportamiento de la mioglobina en líquido pericárdico que en el suero, en los sujetos con infartos de miocardio, guardando una correlación significativa con la CK-MB.

Siguiendo el trabajo de SAKURAI (1979), quien encuentra un aumento de ácidos grasos en el seno coronario, seis horas después de ligar la coronaria, hemos desarrollado en una Tesis el estudio de ácidos grasos totales y su distribución en líquido pericárdico en diferentes causas de muerte. E. LACHI-CA ha podido comprobar que en el infarto de miocardio hay un aumento de ácidos grasos totales y que la fracción que lo hace de modo significativo es el ácido linoléico.

De los elementos que cambian su concentración intra y extracelular tras el infarto se han estudiado dos índices: el K/Na , y el Mg/Ca . En España el Dr. NAVARRETE de Sevilla consagró su Tesis Doctoral a este tema. Un cociente K/Na , medido sobre el sobrenadante de un macerado de miocardio de 1 gr., procedente de la pared anterior, posterior y septum, menor de 0,74 debe considerarse patológico y posiblemente patológico entre 0,75 y 0,90. Los valores normales son de 1,25 + 0,33.

El mayor interés de esta prueba radica, según PEDERSEN (1980) en que cuando se encuentra un cociente menor de 0,75, que justificaría un diagnóstico de infarto, junto con un test enzimático macroscópico positivo, podemos asegurar que el proceso patológico fue anterior a la muerte. Ello puede tener especial relevancia en ciertos accidentes de automóvil, que tienen su origen precisamente en un infarto del conductor. O

en ciertos accidentes de trabajo, en los que se podría invocar el mismo origen. Este diagnóstico puede ser por tanto, de gran relevancia médica legal, dada la repercusión económica que conlleva.

TRAUMATISMOS CRANEO-ENCEFALICOS.—

Guardando un gran paralelismo, tanto en cifras estadísticas, como en dificultad diagnóstica, con el infarto de miocardio, tenemos los traumatismos craneo encefálicos, sobre todo aquellos que cursan sin un cuadro anatomopatológico evidente como es el caso de la conmoción. Desde hace algún tiempo, se ha invocado un substrato molecular como base de esta lesión. WEITBRECHT (1978) estudia las concentraciones enzimáticas de LDH y CPK en líquido cefalorraquídeo en casos de traumatismos. Encuentra que mientras la elevación de la CK no sirve para diferenciar las contusiones de las conmociones, sí son significativas las elevaciones de la LDH en las contusiones suaves, mientras que no se eleva en las conmociones. Alteraciones en el AMP-cíclico han sido observadas por RUIZ MORALES, en L. C. R. de perros sometidos a traumatismos craneo encefálicos con edema, aunque estos trabajos aún no son concluyentes, si son esperanzadores y una línea de colaboración se ha abierto en esta dirección.

Simultáneamente a la línea enzimática, otros estudios se han dirigido hacia las aminas biógenas. Así MOHANTY y col. (1978) estudiando el tejido cerebral de diez pacientes cuya causa de muerte fueron lesiones cerebrales evidentes y edemas secundarios a un traumatismo, encuentran una acumulación de serotonina en el lugar de la lesión y una tendencia de difusión hacia los bordes.

KOGURE (1975) estudia el comportamiento de la nor-adrenalina, dopamina y AMP cíclico en la isquemia cerebral de la rata. Provoca una hemi-isquemia y estudia estos parámetros en un hemisferio y en el otro.

Al AMP cíclico aumenta inmediatamente después de la isquemia, la dopamina aumenta a los 5 minutos y vuelve a la normalidad a las 4 horas. La nor-adrenalina desciende a los 2 minutos y queda baja 4 horas. El aumento de AMP cíclico se explica como el incremento en el metabolismo de la glucosa necesario para hacer frente a la isquemia.

JELLINGER y col. en un trabajo posterior (1979) y más completo, examina la dopamina, serotonina, 5-H. I. A., triptófano y GABA en diez pacientes muertos a consecuencia de infarto cerebral. Una total depleción de dopamina y la 5- H. T. se encuentra en el área de necrosis, asociada a un descenso de los niveles de las mismas en áreas alejadas de la isquemia. El 5-H. I. A., principal metabolismo de la 5-H. T., está reducido en el área necrótica, mientras que la zona perifocal de edema mostraba un incremento de 5-H. T. y de 5-H. I. A.

MUERTE SUBITA DE ORIGEN ANAFILACTICO.—

Todos los patólogos forenses sabemos que el shock anafiláctico produce fundamentalmente trastornos funcionales que luego no quedan reflejados en la autopsia. Los hallazgos macroscópicos son poco concluyentes: edema, congestión, sangre fluida, cianosis y poco más, y los exámenes microscópicos poco específicos: edema perivascular, petequias, dilatación de los vasos capilares, edema pulmonar. Es evidente, que con estos hallazgos el patólogo quedará muy insatisfecho y deberá buscar un análisis complementario que le de a su informe una mayor solidez.

La patogénesis de la reacción anafiláctica involucra, al menos, cinco o seis parámetros bioquímicos que deben ser investigados. El papel de la IgE es bien conocido. La IgE combinada con los mastocitos y basófilos induce la producción de histamina y serotonina.

Si comparamos los valores encontrados para estos parámetros en sangre periférica de sujetos fallecidos por shock ana-

filáctico con otros fallecidos por muerte violenta, que serviría de control, como pudieran ser accidentes de tráfico, tendríamos los siguientes resultados.

	Shock	Muerte por accidente	Valor normal en vida
IgE $\mu\text{g/ml}$	39	14,9	variable
Histamina $\mu\text{g/ml}$.	49	6,4	0-5,5
5-H.T. (serotonina) $\mu\text{g/ml}$.	3,9	0,7	0,1-0,2
Productos de degradación de la fibrina $\mu\text{g/ml}$.	250	72,5	0,25
Factor Hageman %	7	39	100
ATE ₀ esterasa (unidades).	107	41	18,26

Este cuadro, tomado de un trabajo de STEFANINI (1979), pone de relieve el significativo aumento de histamina, serotonina, IgE, productos de degradación de la fibrina y aumento de la actividad de la ATE₀ esterasa en las muertes por shock anafiláctico. Estas aportaciones vienen a completar lo ya propuesto por FRANCHINI (1970) para establecer los estados de hipersensibilidad en el cadáver.

Después de este repaso, que necesariamente he tenido que ser somero, por las distintas áreas de la Patología Forense, llegamos al fin de esta disertación, dejando prendida como idea última la necesidad de interrogar al cadáver con una nueva metodología como es la bioquímica. La vieja idea de que después de la muerte todo se altera hasta el punto de hacer inútil todo análisis, debe rechazarse por errónea y esterilizante.

Finalizada la exposición del tema que me había propuesto desarrollar como motivo del discurso reglamentario de recep-

ción en la Academia, me asalta una duda y un temor que antes no tuve, el que el discurso no haya sido apropiado, en su extensión y contenido. He pretendido corresponder a la gentileza de los asistentes al acto y al alto honor que me dispensa la Academia, ofreciendo mi mejor saber y para el científico no hay más que uno, aquel que él mismo supo elaborar.

Muchas gracias

B I B L I O G R A F I A

1. ARBUS L., ESPAGNO, J., LAZORTHES, Y. and ESPAGNO, M. T. (1974): Diagnostic precoce de la mort cerebrale. *Actes du XXXIV Cong. Int. Med. Legal et Social*.
2. ARNASON, A. and BJARNASON, O. (1972): Postmortem changes of human serum esterases. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*, Section A, 80, 841-846.
3. BERG, S. (1975): Colloque international sur les recents progrès et les perspectives futures du laboratoire medico-legal. *Acta Medicinae Legalis et Socialis. Vol. XXIV*, 147.
4. BOTEZATY, G. A. (1977): Expertiza-Davnosti smerti po Dannim Recitalnoy temperaturi, Biochimicheskim pokazatelyan krovi i Pericardialnoi zhidkosti. *Sudebno Meditsinskaya Ekspertiza*, 20 (1), 39-43.
5. BRAZINSKY, J. H., and KELLENBERGER, R. E. (1970): Comparison of immunoglobulin analyses of antemortem and postmortem sera. *Am. Jour. of Clinical Pathology*, 54, 662-664.
6. CASTELLANO, M.^a y VILLANUEVA, E. (1980): Cambios iónicos en la agonía. *Zacchia. Vol. XVI*, n.º 2, 173
7. CASTELLANO, M.^a y LUNA, A. (1981): Estudio paralelo del comportamiento de los iones metálicos en suero y líquido pericárdico. *Revista Española de Medicina Legal*, n.º 26-27, 91-93.
8. CHIAROTTI, M. and PASCALI, V. L., (1980): Determination of creatine phosphokinase activity in pericardial fluid in various diseases. *Riv. Ital. Med. Leg.* 2/3, 536-541.
9. COE, J. I. (1969): Postmortem chemistries on human vitreous humor. *Amer. J. Clin. Path.*, 51, 741-750.
10. COE, J. L. (1972): Use of chemical determination on vitreous humor in forensic pathology. *J. Forensic Sci.*, 17, 541-546.
11. DALDRUP, T. (1981): The kinetics of the postmortal bacterial metabolism of the glutamic acid in brain. *Z. Rechtsmed.* 86/3, 195-203.

12. DICKSON, S. J., CAIRNS, E. R. and BLAZEY, N. D. (1977): The isolation and quantitation of insulin in postmortem specimens. A case report. *Forensic Sci.* 9/1, 37-42.
13. ENTICKNAP, J. B. (1960): Biochemical changes in cadaver sera. *J. of Forensic Medicine*, 7, 135-146.
14. FAZEKAS, I., KOSA, F., BASCH, A. and VIRAGOS, E. (1973): Untersuchung des histamingehaltes der leber von ratten nach experimentellen verbrennungen. *Zacchia. Vol. IX*, n.º 2, 298.
15. FEKETE, J. F. and KERENYI, N. A. (1965): Post-mortem blood sugar of and blood-urea nitrogen determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 92, 970-973.
16. FINLAYSON, N. B. (1970): Blood Cortisol in infants and adults. A post-mortem study. *Journal of Pediatrics*, 67, 284-292.
17. FRANCHINI, A. CANALE, M., LA CAVERA, A. and POLITI, M. (1970): Les examens immunologiques pour le diagnostic du shock mortel par penicilline. *Med. Leg. et Domm. Corp.*, 3, 160.
18. GALLAGHER, G. R., JUDAH, J. D., and RESS, J. (1956): Enzyme changes during liver autolysis. *J. Path. Bact.* 72, 247.
19. HAMILTON-PATERSON, J. L., and JOHNSON, E., W. M. (1940): Post-mortem glycolysis. *J. of Path. and Bac.* 50, 473-482.
20. JAFFE, F. (1962): Chemical postmortem changes in the intraocular fluid. *J. Forensic Sci.* 7, 231-237.
21. JANNISZE WIC, W. SZNAJDERMAN, M. and WOJAL, P. (1974): Catecholamines and their metabolites in myocardial infarction: some observations concerning their relations hips. *Cor Vasa*, 16/4, 244.
22. JELLINGER, K., RIEDERER, P. and KOTHBAUER, P. (1979): The significance of biogenic amines in cerebral infarction. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 91/10, 339-334.
23. JENSEN, O. M. (1966): Post-mortem chemical diagnosis of uremia. *Int. Microf. J. of Legal Med.*, Vol 1 n.º 3, Carta 8.
24. JETTER, W. (1959): Postmortem biochemical changes. *J. Forensic Sci.*, 4, 330-341.
25. KATSUMATA, Y., SUZUKI, O., OYA, M. and YADA, S. (1980): Plasma thyroglobulin as an indicator of mechanical asphyxia. Comparison of plasma thyroglobulin levels by radioimmunoassay and the results of precipitation-electrophoresis. *Med. Sci. Law* 20/2, 84-88.

26. KOZIK, M. B. (1981): Postmortem activity of respiratory enzymes in human brain. *Acta Histochem.* 68/1, 79-90.
27. LAIHO, K. and PENTTILÄ, A. (1981). Autolytic changes in blood cells and other tissue cells of human cadavers. I. Viability and ion studies. *Forensic Sci. Int.* 17, 109-120.
28. LAVES, W. and BERG, S. (1965): Agonie. *Verlag Max Schmidt-Römhild.*
29. LEAHY, M. S. and FARBER, E. R. (1967): Postmortem chemistry of human vitreous humor. *J. Forensic Sci.*, 12, 214-223.
30. LOPEZ GOMEZ, L. y GIBBERT-CALABUIG, J. A. (1962): *Tratado de Medicina Legal.* Editorial Saber, Valencia.
31. LUNA, A. (1980): *Estudio del comportamiento bioquímico del líquido pericárdico en función de la causa de la muerte y del tiempo de agonía.* Tesis Doctoral. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada.
32. LUNA A., VILLANUEVA, E., LUNA, J. D., JIMENEZ, G. (1980): Evolución post-mortem de proteínas totales, fracciones proteicas, urea y creatinina en el líquido pericárdico. *Zacchia*, Vol. XVI, n.º 434-443.
33. LUNA, A., VILLANUEVA, E., JIMENEZ, G., LUNA, J. D. (1980): Evolución post-mortem de las enzimas GOT, GPT, CK, LDH e inoenzimas en el líquido pericárdico. *Rev. Española de Medicina Legal*, n.º 24-25, 83-84.
34. LUNA, A., VILLANUEVA, E., HIGUERA, J. de la., LUNA, J. D. (1980): Evolución post-mortem del Ca, Mg, Zn, Cu y K en el líquido pericárdico. *Rev. Española de Medicina Legal*, n.º 24-25, 90-94.
35. LUNA, A., CARMONA, A., VILLANUEVA, E. (1982): The post-mortem determination of CK isozymes in the pericardial fluid in several causes of death. *Actas XIIº Congrès Int. de l'Académie de Médecine Légale et Médecine Sociale*, Vol. II, 1013-1017
36. LUNA, A., VILLANUEVA, E., CASTELLANO, M.ª, and JIMENEZ, G. (1982): The determination of CK, LDH and its isoenzymes in pericardial fluid and its application to the post-mortem diagnosis of myocardial infarction. *Forensic Sci. Int.*, 19, 85-91.
37. LUNA, A., VILLANUEVA, E. (1982): Valeur du liquide pericardique dans le diagnostic de la mort subite et du temps probable d'agonie. *J. Med. Legal. Droit Med.*, 25, n.º 3, 373-384.
38. LUNA, A., VILLANUEVA, E., HERNANDEZ-CUETO, C., und LUNA, J. D. (1983): Verhalten des 5-hydroxy-tryptamin und der 5-Hydroxy-indol-Essigsäure im Zusammenhang mit der Agonie. *Z. Rechtsmed.* 89, 215-226.

39. LUNA A., VILLANUEVA, E., HERNANDEZ-CUETO, C. and MORALES, I. (1983): Study of 5-Hydroxytryptamine (Serotonin) in pericardial fluid in different causes of death. *Z. Rechtsmed*, 89, 227-236.
40. LUND, A. (1966): Adrenaline and noradrenaline in blood from cases of sudden, natural of violent death. *Th. Int. Microf. J. of Leg. Med., Vol, 1*, n.º 3, Carta 9.
41. LUNDQUIST, O. (1973): Determination of insulin and glucose postmortem. *Forensic Sci.*, 2, 55-56.
42. LYTHOGE, A. S. (1980): The Activity of Lactate Dehydrogenase in Cadaver Sera: a comparison of Different Sampling Sites. *Med. Sci. Law.*, 20, n.º 1, 48-53.
43. LYTHOGE, A. S. (1981): Postmortem activity of alkaline phosphatase in serum from different Sites of the Cadaver cardiovascular System. *J. Forensic.*, 21, 337-340.
44. MC. CORMICK, G. M. (1972): Nonanatomic postmortem techniques: Postmortem serology. *J. Forensic Sci.* 17, 57, 62.
45. MOHANTY, S., DEY, P. K., SEN, P. C. and RAY, A. (1978): Accumulation of serotonin in human cerebral contusion. *Neurol. India.* 26/2. 68-70.
46. NAUMANIN, H. (1950): Studies of postmortem chemistry. *J. of Clin. Path.*, 20, 314-324.
47. NAUMANN, H. (1959): Postmortem chemistry of the vitreous body in man. *Arch, Ophthalmol.* 62, 356-363.
48. OEHMICHEN, M. (1980): Enzyme alterations in brain tissue during the early post-mortal interval with reference to the histomorphology: Review of the literature. *Z. Rechtsmed*, 85, 81-95.
49. OLIVEIRA DE SA, F. M. (1966): *Cronotanatognosis*. Tesis Doctoral. Coimbra.
50. PEDERSEN, P. K. (1980): Determination of potassium/sodium ratio in heart tissue. Evaluation of its use as an index of myocardial ischemic damage. Comparison with the nitro-BT test. *Forensic Sci. Int.*, 16/3, 271-280.
51. PERRY, T. L., HANSEN, S. and GANDHAM, S. S. (1981): Postmortem changes of amino compounds in human and rat brain. *Neurochem*, 36/2, 406-412.
52. PHILLIPS, A. P., WEBB, D. and CURRAY, A. S. (1972): The detection of insulin in postmortem tissue. *J. Forensic Sci.*, 17, 460.

53. REDDY, D. V. and KINSEY, V. E. (1960): Composition of the vitreous humor in relation to that of plasma and aqueous humors. *Arch. Ophthalm.*, 63, 167-172.
54. SAROIU, I. (1971): Valeur et limites de la thanatochimie en médecine légale. *Med. Leg. et Domm. Corp.*, 4, 119.
55. SAWAGUCHI, A. (1975): Biochemical studies on the changes of several enzymes and hormones in blood of asphyxia. Isozymes of lactate dehydrogenase and glutamate aminotransferase insulin and cortisol levels. *Acta Medicinæ Legalis et Socialis*, 24, 567.
56. SCHELEYER, F. (1963): Determination of the time of death in the early postmortem interval. *Methods of Forensic Science. Vol II.* Interscience Publishers (John Wiley and Sons) 253-293.
57. SCHMIDT, B., LOPES, A., and MONTEIRO, A. (1970): Valeur des examens de laboratoire effectués postmortem. *Actua*, 20, 13.
58. SCHONING, P. and STRAFFUS, A. C. (1980): Postmortem biochemical changes in canine vitreous humor. *J. of Forensic Sci.*, 25, n.° 1, 53-59.
59. SCHONING, P. and STRAFFUS, A. C. (1980): Postmortem biochemical changes in canine cerebrospinal fluid. *J. of Forensic Sci.*, 25, n.° 1, 60-66.
60. SCHONING, P. and STRAFFUS, A. C. (1980): Postmortem biochemical changes in canine blood. *J. of Forensic Sci.*, 25, n.° 2, 336-343.
61. SCHONING, P. and STRAFFUS, A. C. (1980): Postmortem sera and cerebrospinal fluid enzymes. *J. of Forensic Sci.*, 25 n.° 2, 344-348.
62. SIVALOGANATHAN, S. (1982): Ante-mortem injury of Postmortem: Diagnosis using Histamine as a Marker. *Med. Sci. Law*, 22, n.° 2, 119-125.
63. STURNER, W. Q. and GANTNER, G. E. (1964): Postmortem vitreous glucose determinations. *J. Forensic Sci.*, 9 485-491.
64. STURNER W. Q. and DOWDEY, A. B. C., PUTNAM, R. S. and DEMPSEY, R. S. (1972): Osmolality and other chemical determinations in postmortem human vitreous humor. *J. Forensic Sci.*, 17, 387-393.
65. STURNER W. Q. and DEMPSEY, B. S. (1973): Sudden infant death: chemical analysis of vitreous humor. *J. Forensic Sci.*, 18, 12-19.
66. STURNER, W. Q. (1972): Postmortem vitreous humour analyses: A review of forensic applications. *The Forensic Science Gazette*, Vol. 3, n.° 2, 14.
67. TSUNENARI, S., LYTHOGE, A. S. and GEE, D. J. (1981): The activity of the Rate-Limiting Glycolytic enzymes in the Erythrocyte with Relation to Time After Death. *J. Forensic. Sci.*, 21, 333-336.

68. VILALOBOS, S. (1976): *Modificaciones enzimáticas en el curso de las asfixias experimentales*. Tesis de Licenciatura. Granada.
69. VILLANUEVA, E. (1982): Cronotanatodiagnóstico: Métodos y Crítica. En Estudios dedicados a JUAN PESET ALEIXANDE. Tomo III., p. p. 779-809. Universidad de Valencia.