



FACULDADE DE DEREITO

Determinación de la data de la muerte en el cadáver reciente

TFG presentado por Elena Graña Rodríguez

Curso académico 2019/2020

Tutor: José Ignacio Muñoz Barús

Resumen

La determinación del IPM sigue siendo uno de los temas más relevantes en la medicina forense, con una especial importancia en el ámbito penal. A lo largo de los años se han diseñado numerosos métodos para la determinación del IPM. Se pueden agrupar en dos grandes bloques, aquellos que se utilizan en el IPM reciente y aquellos del IPM tardío, ambos separados por el inicio de la putrefacción. En este caso, nos centraremos en el intervalo de las primeras 24-48 horas del cadáver tras la muerte, entre estos métodos se encuentran, métodos basados en descripciones subjetivas, como el vaciado del contenido gástrico o la excitabilidad mecánica y eléctrica, métodos con descripciones matemáticas, como el enfriamiento cadavérico o la bioquímica del humor vitreo, siendo el primero de estos dos el más conocido y utilizado en la actualidad. Los investigadores continúan buscando métodos que sean más precisos a la hora de estimar el IPM por lo que también se explorarán nuevos métodos todavía en desarrollo. Se llevó a cabo una revisión sistemática de la bibliografía existente, analizando los métodos utilizados en la actualidad, así como de su fiabilidad.

Palabras clave: IPM, determinación del IPM, medicina forense, data de la muerte, IPM reciente.

Abstract

The determination of the postmortem interval continues to be one of the most relevant topics in forensic medicine, with special importance in the criminal sphere. Over the years, several methods have been designed for the specification of the PMI. They can be grouped into two large blocks, those used in the recent postmortem interval and those in the late postmortem interval, both separated by the onset of putrefaction. In this case, we will focus on the interval of the first 24-48 hours of the corpse after death, among these methods are, methods based on subjective descriptions, such as gastric emptying or mechanical and electrical muscular excitability, methods with mathematical descriptions, such as cadaverous nutrition or the biochemistry of vitreous humor, the first of these two being the best known and currently used. Researchers continue to investigate methods that are more accurate in estimating the PMI, so we will also explore new methods still in development. A systematic review of the existing bibliography was carried out, analyzing the methods currently used, as well as their accuracy.

Keywords: PMI, postmortem interval estimation, forensic medicine, time since death, early postmortem interval.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	4
2. DISEÑO DE BÚSQUEDA	5
2.1. METODOLOGÍA	5
2.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	6
3. RESULTADOS	6
3.1. MÉTODOS BASADOS EN UNA DESCRIPCIÓN SUBJETIVA	6
3.1.1. Métodos basados en la experiencia: Vaciado del contenido gástrico ...	6
3.1.2. Métodos con precisión cuantificada	7
3.1.2.1. Excitabilidad farmacológica del iris	7
3.1.2.2. Excitabilidad muscular mecánica.....	8
3.1.2.3. Excitabilidad muscular eléctrica.	9
3.1.3. Métodos basados en estimaciones empíricas.....	11
3.1.3.1. Lividez cadavérica o livor mortis.....	11
3.1.3.2. Rigidez cadavérica o rigor mortis.....	12
3.2. MÉTODOS CON DESCRIPCIÓN MATEMÁTICA.....	15
3.2.1. Enfriamiento cadavérico o algor mortis.	15
3.2.2. Bioquímica del humor vítreo.....	25
3.3. MÉTODOS EN DESARROLLO.....	33
3.3.1. Integridad del ARN y ADN	33
3.3.2. Cambios en tejidos y fluidos	34
3.3.3. Otros métodos	36
4. DISCUSIÓN	36
5. CONCLUSIONES	37
6. BIBLIOGRAFÍA.	39

1. Introducción

La determinación correcta de la data de la muerte resulta crucial en numerosos ámbitos, tanto penal como civil, y para diversos hechos, como sería, la investigación policial, el pago de seguros, etc.

Históricamente el diagnóstico de muerte se basaba en el cese de la función respiratoria. Posteriormente con el descubrimiento de William Harvey de la circulación, la muerte se constata con el cese de la respiración y el detenimiento del latido cardíaco. Posteriormente se demostró que era posible reanimar a una persona que haya sufrido un paro cardíaco o en la que haya cesado su función respiratoria, por lo que el concepto de muerte vuelve a encontrarse incompleto [1]. Si bien se entiende por muerte el término de la vida biológica, implicando la desintegración irreversible del organismo [2]. No obstante el concepto legal de muerte está ligado al cese irreversible de las funciones cardiorrespiratorias y/o encefálicas [3].

Toda muerte vendrá precedida por un proceso de agonía, más o menos corto dependiendo de la causa de la muerte, así como de un periodo de resucitación, con la probabilidad de ser reanimado, pero que, tras este, será irreversible. El encargado de llevar a cabo la determinación de la data de la muerte en casos de muerte violenta o sospechosa será el patólogo forense o aquél que actúe como tal [4], asimismo se encargará de la búsqueda de evidencias que se pueda utilizar en un juicio, realizará esta tarea valiéndose de los cambios que sufrirá el cuerpo tras la muerte.

Nos referiremos a continuación al intervalo postmórtem (IPM) como aquel que abarca la muerte de la persona hasta su posterior hallazgo, haciendo estimaciones de la data en la que se produjo la muerte. El IPM podemos dividirlo en dos intervalos diferentes:

- IPM reciente: intervalo de tiempo que ocurre entre la muerte y el inicio de la putrefacción.
- IMP tardío: intervalo que acontece una vez iniciada la putrefacción.

La putrefacción se basa en “el proceso destructor del cadáver que consiste en una fermentación de sus componentes bioquímicos realizada por bacterias, aerobias y anaerobias. Se realiza en cuatro etapas: cromática, cuyo comienzo está en la mancha verde abdominal; enfisematosa, colicuativa y de reducción esquelética.”, De esta forma,

dependiendo del ambiente en el que se encuentre el cadáver, este tendrá un proceso de putrefacción más temprano o más tardío [5].

La estimación del IPM es una de las tareas más complicadas en la Medicina Legal, no existiendo un método que sea completamente exacto para ello, cuanto más prolongado es el IPM menos precisa es la estimación. Así mismo, dependiendo del estado que tenga el cadáver, se utilizarán unas técnicas u otras, en el caso del cadáver tardío se utilizarían métodos con poca precisión, mientras que, en el caso del cadáver reciente, la precisión se ve aumentada. En este último supuesto distinguimos los siguientes métodos:

- Métodos basados en conclusiones subjetivas, como el contenido gástrico.
- Métodos basados en descripciones subjetivas con precisión cuantificada, como serían la excitabilidad muscular eléctrica y mecánica, así como la excitabilidad farmacológica del iris.
- Métodos basados en descripciones subjetivas con estimaciones empíricas, como serían la lividez y la rigidez muscular.
- Métodos basados en la medición cuantitativa matemática, como serían la bioquímica del humor vítreo y el enfriamiento cadavérico.

Cada una de estas metodologías presentan un nivel diferente de fiabilidad, en este caso de menor a mayor. A la hora de estimar la data de la muerte deben utilizarse aquellos métodos más fiables dentro de los posibles o adecuados a las circunstancias, esto hace que la estimación del IPM sea una aproximación y no una exactitud. Hoy en día, todavía la determinación del IPM sigue siendo objetivo de discusión por lo que, numerosos investigadores continúan buscando un método que mejore la precisión sin renunciar a la fiabilidad de este.

2. Diseño de búsqueda

La información disponible para este trabajo se localizó mediante una búsqueda sistemática de artículos relacionados con la medicina legal y forense, así como de manuales y otros estudios relacionados con el IPM reciente.

2.1. Metodología

Se han utilizado bases de datos como *PubMed*, *Scopus* y buscadores similares relacionados con la Medicina Legal. La mayoría de la búsqueda se realizó en inglés, utilizando términos como “early postmortem estimation”, “mínimum PMI”, “IPM

reciente”, y variaciones de estos. El marco temporal se circunscribe a los 100 últimos años, siendo la última búsqueda el 22 de mayo de 2020. El elemento utilizado como base para la construcción de este trabajo ha sido “Handbook of Forensic Medicine by Madea, B [6].”

2.2. Criterios de inclusión y exclusión

En la realización de este trabajo se incluyeron todos aquellos artículos, o manuales, de fuentes fiables que estuviesen relacionados con la estimación del IPM reciente. Se excluyeron aquellas fuentes de las que no se podía comprobar su veracidad o no estaban relacionados con el tema a tratar. Todos estos documentos se encuentran numerados en la bibliografía de este documento y están ordenados por orden de aparición en el mismo.

3. Resultados

En la búsqueda inicial se encontraron un total de 58 artículos, siendo este número aumentado posteriormente con una búsqueda específica de cada apartado mostrado en el índice, y se rechazaron un total de 20 artículos [7-27], debido a que no contenían información relevante para la construcción de este trabajo, se trataba de información redundante o no eran aclaratorios. Finalmente se consiguieron un total de 142 artículos.

Se menciona en la introducción que los distintos métodos para determinar la data de la muerte se ordenan en tres grandes grupos, aquellos denominados métodos subjetivos, métodos con base matemática y métodos todavía en desarrollo.

3.1. Métodos basados en una descripción subjetiva

Este método forma parte de aquellos pertenecientes a la descripción subjetiva, es decir, por medio de grados, basados en fenómenos supravitales que se muestran con precisión cuantificada y consideran la influencia de factores modificadores.

3.1.1. Métodos basados en la experiencia: Vaciado del contenido gástrico

El vaciado del contenido gástrico no se trata de un método completamente relevante debido a que existen numerosas circunstancias, por ejemplo, factores individuales, como el tipo de comida o la presencia de fármacos, que podrían modificar considerablemente el resultado de este método. Otros factores que podrían afectar a dicho vaciado gástrico podrían ser la masticación, si se mastica más rápidamente un alimento sólido, más rápido será el tránsito de este; el alcohol, en altas cantidades enlentece el vaciado, y de la misma

forma, el estrés podría llevar a parar el desplazamiento gástrico. Acorde con la literatura especializada, el tiempo del vaciado gástrico suele ser entre 1-3 horas para una comida ligera, de 3-5 horas para una comida media y de 5-8 para una comida abundante [28]. Es remarcable el hecho de que la digestión podría continuar después de la muerte.

No se trata de un buen método para la determinación del IPM, pero si tiene cierta relevancia sobre todo en ámbito penal y policial ya que se podría determinar la última comida de la persona, pudiendo resultar en una ayuda para la investigación si conocemos la hora de esta última ingesta [29].

3.1.2. Métodos con precisión cuantificada

Estos modelos se basan en la medición de los fenómenos supravitales.

3.1.2.1. Excitabilidad farmacológica del iris

Este método está basado en la reactividad del músculo liso del iris a una estimulación farmacológica. Klein et al [30] llevaron a cabo un estudio mediante el cual inyectaban en la conjuntiva 18 tipos de sustancias diferentes, en un total de 5765 ojos de 3979 cuerpos distintos, para observar cómo reaccionaba el iris. El comienzo de las reacciones variaba entre 5 y 30 minutos, y duraban al menos 1 hora. Las concentraciones de droga no influían ni en la duración ni en la fuerza de la reacción. En este estudio, se pone de manifiesto que el iris muestra una reacción midriática¹ ante tropicamida, entre las 5 y las 30 horas postmórtem (hpm), y ante la atropina, entre las 3 y 10 hpm. Además, también se encontró una reacción miótica² ante la acetilcolina, entre las 14 y 46 hpm.

También se utilizó noradrenalina, que causaría una reacción midriática, pero el uso de la acetilcolina es mucho más preciso [31].

La utilidad de este de este método a la hora de determinar la data de la muerte reside en emplear los límites temporales superiores e inferiores en lo referente a la aparición del fenómeno para determinar si dicha muerte se produjo dentro de estos límites. Se trata de un límite considerable de tiempo a tener en cuenta, por lo que este método se utiliza a menudo en conjunto con otras metodologías.

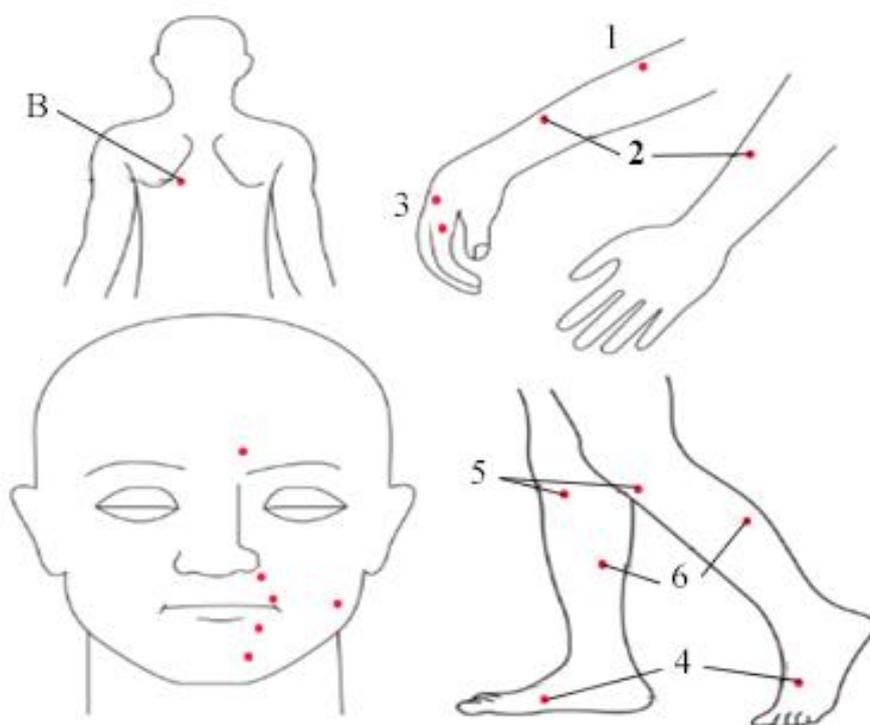
¹ Aumento del diámetro o dilatación de la pupila.

² Reducción del diámetro de la pupila.

3.1.2.2. Excitabilidad muscular mecánica

Aunque no existe mucha bibliográfica para este tipo de método, en la excitabilidad muscular mecánica contamos con dos fenómenos, que se utilizan para el estudio muscular post mortem, el primero se basa en la contracción muscular como respuesta a un estímulo mecánico directamente provocado en el cadáver, es conocido como fenómeno idiomuscular [32]. El segundo se conoce como fenómeno Zsako (Figura 1), haciendo referencia a la capacidad del músculo de transmitir por sus fibras la excitación mecánica, provocando una contracción total del músculo.

Figura 1: Lugares donde comprobar el fenómeno de Zsako.



Fuente: modificada de Madea [29].

Como ya mencionábamos anteriormente, no se suele contar con esta práctica muy a menudo, pero el límite establecido general ha sido de entre 8 y 12 hpm (Tabla 1). Existe un estudio reciente de Warther et al [33] en el que se estima que el límite superior podría ser de 13 hpm.

Tabla 1: Diferentes fases de excitabilidad muscular

Fase 1	Contracción de todo el músculo; 1,5-2,5 hpm
Fase 2	Idiomuscular fuerte reversible; 4-5 hpm
Fase 3	Idiomuscular débil que puede persistir durante más tiempo, irreversible; 8-12 hpm

Fuente: adaptada de Madea [29].

De esta forma, podemos calcular el IPM siguiendo el límite superior de tiempo establecido para cada músculo, es decir, si se produce una respuesta muscular o no, después de un determinado estímulo. Es un método que requiere de mucha experiencia por parte del examinador, además de que presenta muchas limitaciones.

3.1.2.3. Excitabilidad muscular eléctrica.

Los músculos no solo responden ante un estímulo mecánico, sino que también pueden hacerlo a uno eléctrico. Las primeras investigaciones sobre este tipo de método se remontan a finales del siglo XVIII. Esta técnica se basa en la contracción del músculo esquelético que se produce tras la aplicación de una corriente eléctrica de carga determinada, con la colocación de electrodos en la superficie o insertados en el músculo, y de la cual se hará una valoración visual.

Esta valoración tendrá en cuenta [31]:

- a) La fuerza de la contracción.
- b) La propagación del movimiento a diferentes áreas separadas de los electrodos.

Cuanto más reciente sea el cadáver, mayor será la contracción de los músculos y aumentará la propagación. Dicho esto, aunque esta reacción puede ser observada en numerosos músculos, la mayoría de la investigación sobre la excitabilidad muscular eléctrica se centra en la zona facial, concretamente en el músculo orbicular ocular. Para esto se colocan los electrodos a una distancia de entre 15 y 22 mm en la zona nasal del párpado superior y a una profundidad de entre 5 y 7 mm [34]. También puede medirse esta respuesta colocando electrodos a ambos lados de la boca. La respuesta muscular se puede clasificar en seis grados [35]:

Grado I: contracción local en el párpado en la que sitúa el electrodo.

Grado II: contracción de la mitad del párpado superior.

Grado III: contracción de la totalidad del párpado superior.

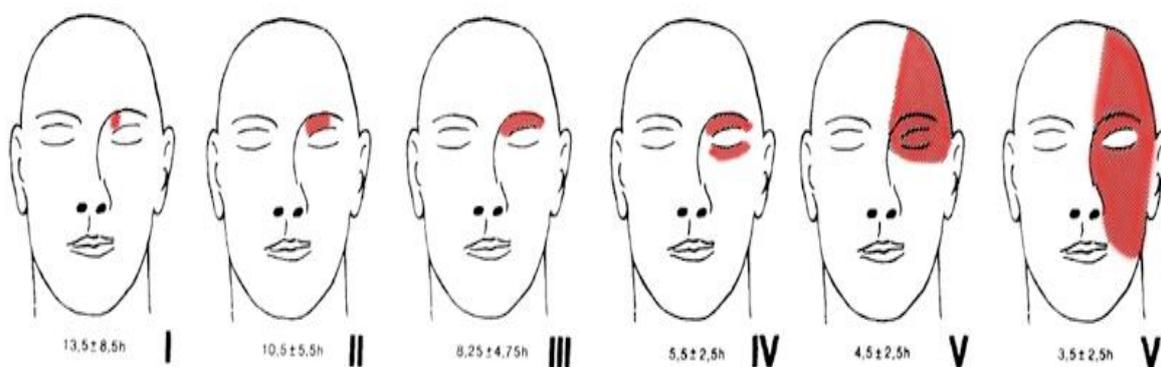
Grado IV: contracción de párpado superior e inferior.

Grado V: contracción de ambos párpados y frente.

Grado VI: contracción de ambos párpados, frente y mejilla.

En la figura 2, se muestra una representación gráfica, con las localizaciones y las horas post mortem durante las que se daría ese tipo de reacción, calculadas con un límite de confianza del 95%, por Henssge, basándose en algunos materiales seleccionados aleatoriamente. Este no es el único elemento problemático de este método, ya que existe una falta de consenso metodológico con los diversos autores que lo han seguido, por ejemplo, se utiliza en ocasiones el músculo orbicular del ojo y en otros la boca. Existen diferentes grados de respuesta (3,4 [35] y 6 [30]), diferentes tipos de electrodos (superficie e inserción [36]), etc., lo que provoca que sea método de difícil fiabilidad.

Figura 2. Diferentes grados de respuesta muscular.



Fuente: modificado de Henssge et al [37]. Representación gráfica de los diferentes grados de respuesta muscular a la excitación de una corriente eléctrica propuestos por Klein et al [30], con los intervalos de confianza calculados por Henssge [37].

Además, las diferentes metodologías no son el único problema, también existe una variabilidad en cuanto a la respuesta dependiendo de factores externos, como por ejemplo, la temperatura muscular, la existencia de un hematoma o enfisema en el párpado o el

periodo de agonía. En definitiva, se trata de un método de difícil aplicabilidad real, sobre todo en contextos judiciales.

3.1.3. Métodos basados en estimaciones empíricas

3.1.3.1. Lividez cadavérica o livor mortis

La lividez cadavérica o hipóstasis, también denominada *livor mortis*, es el nombre que recibe el color rojo o azul que adquiere la piel y los órganos internos cuando cesa la circulación sanguínea y debido al efecto de la gravedad, en zonas declives del cuerpo. Normalmente el cuerpo se encuentra en una posición supina, por lo que la hipóstasis se encontrará en la espalda, en las nalgas, muslos y en la parte posterior del cuello. Se trata del cambio postmórtem que primero aparece, ya que puede hacerse visible a partir de 20-30 minutos desde el momento de la muerte [6].

Esta coloración será normalmente rojo azulada, o de un tono más violáceo, ya que proviene de la acumulación de sangre venosa. Puede tener un color menos intenso en caso de que existiese anemia o hemorragia, o aparecer más fácilmente en caso de asfixia, ya que la sangre se encuentra más fluida. De la misma forma, también pueden aparecer con una tonalidad rosada en caso de intoxicación por monóxido de carbono o cianuro; en el caso de intoxicación por metahemoglobina aparecerán con un color similar al marrón; en el caso de hipotermia tomarán un color rosa intenso; y, en caso de que un cuerpo se mueva de una zona con temperatura fría a una más cálida, pueden aparecer livideces de color azul oscuro [38]. Así mismo, en caso de sepsis puede provocar una coloración cobriza o verdosa.

La hipóstasis no es fija durante las primeras horas, por ejemplo, durante las ocho primeras horas si presionamos el pulgar contra la lividez esta desaparece. De hecho, si rotamos el cadáver en las primeras horas, la hipóstasis se desplazará a las zonas más bajas, influenciada de nuevo por la gravedad. Cuando el IPM es mayor, la presión realizada con el pulgar no funcionará, de la misma forma que las livideces no se moverán, aunque rotemos el cuerpo. *Se puede decretar el máximo si durante la investigación en la escena del crimen y el traslado para realizar la autopsia la hipóstasis no aumentó.* De esta forma, las diferentes etapas en la lividez postmórtem serían [39] :

1. Inicio. Aparecen parches moteados en las zonas más cercanas al suelo.
2. Confluencia. Se establece la confluencia si se observan áreas separadas de decoloración de intensidad moderada.

3. La coloración alcanza su intensidad máxima.
4. Al realizar la presión con el pulgar la lividez desaparece.
5. Desplazamiento completo: la lividez cambiará de lugar sí se cambia de posición el cadáver.
6. Desplazamiento incompleto: la hipóstasis no se traslada completamente [40].
7. Lividez fija: la hipóstasis no variará al mover el cuerpo [40].

El problema principal de este método radica en que su utilidad es muy limitada. Por ejemplo, en ocasiones las livideces pueden no aparecer o ser muy difíciles de detectar, además de que su aparición es muy variable, ya que puede darse una hipóstasis móvil en algunos cuerpos de hasta 3 días, de la misma forma cualquier factor que afecte a la sangre afectará también a este proceso. A continuación, se muestra la tabla 2, que relaciona las fases de la hipóstasis con el IPM.

Tabla 2: Relación entre IPM e hipóstasis.

Fases de lividez:	Media	Desviación estándar
Inicio	0,75 h	0,5 h
Confluencia	2,5 h	1 h
Intensidad Máxima	9,5 h	4,5 h
Desplazamiento completo con presión del pulgar	5,5h	6 h
Desplazamiento incompleto	17 h	10,5 h
Desplazamiento completo al voltear el cadáver	3,75 h	1 h
Desplazamiento incompleto al voltear al cadáver	11 h	4,5 h
Palidez al voltear el cadáver	18,5 h	8 h

Fuente: modificada de los datos presentados por Mallach [39]. En primer lugar, muestra el tiempo medio postmórtem de aparición para las livideces, a continuación, la desviación correspondiente a las mismas.

3.1.3.2. Rigidez cadavérica o rigor mortis

Consiste en la falta de relajación de la musculatura, tanto voluntaria como involuntaria, también se la denomina *rigor mortis*. Se trata del segundo cambio postmórtem después de la lividez. El *rigor mortis* se desarrolla en un ambiente a temperatura normal entre 3-4 horas tras la primera flacidez.

Inicialmente, tras la muerte, el cuerpo se volverá totalmente flácido debido a la interrupción de la circulación sanguínea. Esta interrupción produce la desaparición de oxígeno en los músculos, provocando la permeabilidad del retículo sarcoplasmático,

facilitando la salida del calcio a favor del gradiente de concentración. Este calcio provocará un cambio en la cabeza de tropomiosina, que desencadenará la unión entre la actina y la miosina. Debido a que los músculos precisan del ATP³ para la relajación, ante la falta de este se mantendrá la contracción muscular [41]. La rigidez empieza cuando la concentración en el músculo del ATP decae hasta el 85% de los valores habituales, y dicha rigidez es máxima cuando disminuye hasta el 15%. De todas formas, es posible hacer desaparecer la rigidez inicial mediante una inyección in vitro de ATP [42].

Inicialmente se creía que el *rigor mortis* suele aparecer en primer lugar en músculos involuntarios del corazón, siguiendo una progresión proximal-distal. Observándose en los párpados, después en el cuello, mandíbula inferior, pecho, extremidades superiores, etc [43]. Actualmente, se considera que la rigidez ocurre en toda la musculatura al mismo tiempo, dependiendo de la concentración de ATP.

Existen cambios en la rigidez cadavérica dependiendo de la situación ambiental, en climas templados de condiciones no extremas. El rigor será aparente en la primera hora y media del IPM, incrementándose hasta un máximo de 12 horas, permaneciendo así otras 10-12 horas, procediendo a desaparecer progresivamente en las siguientes 12 horas. En el caso de una temperatura de 60°C, la rigidez comenzará casi instantáneamente, mientras que a 4-5°C puede retrasarse hasta 90 minutos [44]. De la misma forma, la aparición de la rigidez es más temprana en casos en los que se aumentara el consumo de ATP o se disminuyeran las reservas de energía, existiera ejercicio físico antes de morir, así como en caso de intoxicaciones por drogas convulsionantes o tras una electrocución. En el caso contrario, la intoxicación por CO enlentece la aparición de la rigidez. Otro factor a tener en cuenta será la masa muscular del cadáver, ya que será muy evidente en cadáveres musculados y muy poco aparente en cuerpos de edades avanzadas o de poca musculatura. Durante el periodo del *rigor mortis* se pueden distinguir cuatro fases [45]:

- 1ª fase: Periodo de latencia. Comienza tras la muerte, el músculo se mantiene en un estado normal, preservándose relajado mientras el contenido del ATP se mantiene en los valores habituales, es decir, mayor al 85%.
- 2ª fase: Inicio (rigidez reversible). Los valores de ATP caen por debajo del nivel crítico. Los puentes entre actina y miosina están intactos, por lo que aparecerá la rigidez. En esta fase, la rigidez todavía puede ser revertida

³ Trifosfato de adenosina

mediante la adición de ATP u oxígeno, el músculo sigue siendo funcional [42]. Si se revierte, volverá a instaurarse cuando se formen nuevos complejos de actina y miosina.

- 3ª fase: Rigor (rigidez irreversible). La rigidez está completamente desarrollada, siendo irreversible. Los cambios postmórtem destruyeron la capacidad de los músculos para relajarse.
- 4º fase: Resolución. La rigidez desaparece mediante un proceso de desnaturalización del músculo [46].

A la hora de relacionar el IPM con la rigidez cadavérica, se han utilizado en mayor medida estudios que se basan en la resistencia de articulaciones al movimiento, como la rodilla o el codo, aplicando una fuerza extrínseca, valorando de esta forma si existe o no rigidez. En la tabla 3, se mostrará la relación elaborada por Mallach [39], basándose en una revisión bibliográfica, para la cronología de la rigidez cadavérica y su relación con el IPM.

Tabla 3: Rigidez e IPM.

Fase de rigor	Media y desviaciones estándar en h	Horas postmórtem				Número de publicaciones evaluadas
		Límites del 95.5% de probabilidad		Variaciones		
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	
Latencia	3 ± 2	-	7	<1/2	7	26
Rigidez Reversible	Hasta 5	-	-	2	8	-
Rigidez Completa	8 ± 1	6	10	2	20	28
Rigidez Irreversible	57 ± 14	29	85	24	96	27
Resolución	76 ± 32	12	140	24	192	27

Fuente: adaptada de Henssgé et al [45]. Relación entre IPM y rigor mortis

Está claro que la estimación de la rigidez cadavérica supone una ayuda a la hora de estimar el IPM utilizando como guía los límites inferiores y superiores. Además, por ejemplo, en

caso de que se encuentre un cuerpo con el rigor establecido en una posición antigravitatoria, confirmaría el hecho del cuerpo ha sido movido de su posición original. De todas formas, a la hora de medir el *rigor mortis*, debido al propio método que se utiliza, se destruyen los puentes actina y miosina, lo que alterará las mediciones que se realicen después, igualmente, debido a los factores que pueden hacer variar la aparición del *rigor mortis*, es necesario utilizar esta técnica de forma complementaria a otras.

3.2. Métodos con descripción matemática

Estos métodos cuentan con una medición cuantitativa. Cuantifican la influencia de los factores que modifican el método, contando con una prueba y cuantificación de su precisión.

3.2.1. Enfriamiento cadavérico o *algor mortis*.

La medición de la temperatura corporal es uno de los métodos más populares a la hora de determinar la data de la muerte. El primer caso documentado de la utilización de este fue publicado en el S.XIX de mano del Dr. John Davy [47], en él se mide la temperatura a 18 cadáveres de soldados con un termómetro de mercurio. En una primera instancia, podría comprobarse la temperatura del cuerpo colocando una mano en la frente, la cara o una de las manos, solo para comprobar si la muerte se ha producido hace mucho o poco tiempo, no obstante aquella que tiene un valor real y que será la mayormente utilizada, es la temperatura rectal [44]. Es preferente debido a que se considera no invasiva, al contrario que la del hígado, aporta temperatura corporal central y además es fácilmente accesible.

De esta forma, la mayoría de los modelos basados en el enfriamiento utilizan una curva de la temperatura rectal, que desciende hasta ser la misma que la temperatura ambiente. La medición de esta temperatura ha sido objeto de estudio en numerosas ocasiones, por lo que a continuación, se mostrará un recorrido por las diferentes fórmulas matemáticas utilizadas para su cálculo, acorde con los diferentes autores, y las clasificaremos de acuerdo con la cantidad de términos exponenciales que posean.

Es necesario comenzar con la fórmula más básica, la denominada regla del pulgar de Moritz [48], en el que se asume que el cuerpo reduce su temperatura en un grado por cada hora. Se propusieron dos fórmulas, la primera utiliza grados Fahrenheit y en la segunda se utiliza el 3 como compensación por el *plateau* inicial, es decir, la espera antes del descenso de la temperatura:

$$IPM = \frac{T^a \text{ rectal en el momento de la muerte} - T^a \text{ rectal medida es la escena}}{1.5}$$

$$IPM = (T^a \text{ rectal en el momento de la muerte}) - (T^a \text{ rectal en la escena}) + 3$$

En primer lugar, en los modelos con un solo exponente, comenzaremos por Rainy [49]. Realizó un estudio con 46 cuerpos manteniéndolos a una temperatura constante, tomando la temperatura en el ombligo y en el recto. Aunque Rainy admite que la Ley de Newton no puede aplicarse totalmente en la medición de la temperatura corporal, no la descarta. Acorde a este autor la tasa de enfriamiento de un cuerpo variará dependiendo de:

- a) Un aumento de la temperatura de hasta 4 horas de duración
- b) La forma general de la curva de enfriamiento.

Además, asume que la temperatura rectal en el momento de la muerte es de 100°F y tampoco tiene en cuenta otros factores que puedan afectar al proceso de enfriamiento, por lo que no es muy precisa. A continuación, la fórmula matemática, donde D es la temperatura rectal en la muerte menos la temperatura ambiental, t es la temperatura rectal menos la ambiental, t' es la t^a rectal medida una hora más tarde menos la temperatura ambiental, y r , es la división entre t/t' .

$$IPM = \frac{\log D - \log t'}{\log r}$$

El siguiente método para la medición de la temperatura pertenece a Fiddes y Patten [50], denominado el método del porcentaje. Consiste en la medición de, al menos en dos ocasiones, la t^a rectal y su comparación con una curva de medición estándar. Esta curva es similar a la Ley de Newton, por lo que este tampoco tiene en consideración el *plateau* inicial, y tampoco el posible efecto de otros factores en el descenso de temperatura.

Saram et al [51] también elaboran su propia fórmula, realizando un estudio con 41 presos ahorcados, pero igual que los métodos anteriores, no tiene en cuenta el *plateau* real, aunque sí añade 45 minutos para tener en cuenta el retraso en el enfriamiento del cuerpo, y tampoco tienen en cuenta otros factores que pueden influir en la temperatura. La fórmula es la siguiente [52], donde θ_0 es la temperatura rectal en el momento de la muerte, θ_1 es la temperatura rectal en el t_1 tras la muerte y θ_2 es la temperatura rectal en el t_2 tras la muerte.

$$IPM = \frac{\log \theta_0 - \log \theta_1}{\log \theta_1 - \log \theta_2}$$

El último método referido a un solo exponente pertenece a Green y Wright [52], denominado “método TDZE”, donde se realizó un análisis comparativo de 67 casos. Este método tiene en cuenta tanto el hecho de que existe un tiempo de espera antes del descenso de temperatura, como los diferentes factores que podrían afectar a la temperatura del cuerpo. Además, este asume que la temperatura rectal en el momento de la muerte es de 37,5°C y evita el uso de parámetros sobre el tamaño corporal. La fórmula es la siguiente, en la que F se encuentra en la curva donde las abscisas equivalen a θ reducida, dicha θ reducida es igual a la temperatura rectal en el momento de la muerte menos la temperatura rectal media dividido entre la temperatura rectal en el momento de la muerte menos la temperatura ambiente, A hace referencia a la diferencia entre la temperatura rectal y la temperatura ambiente y G es la caída de la temperatura en °C por cada hora transcurrida.

$$IPM = -F \times A/G$$

En 1960, Marshall y Hoare [53] llegan a la conclusión de que para determinar el momento de la muerte es necesario el uso de un método con doble exponencial. Estos autores analizan la curva de enfriamiento concluyendo que tiene una forma sigmoidea, es decir, existencia inicial del *plateau*, una segunda fase en la que el enfriamiento se produce de forma lineal y una tercera, en la que la temperatura se va a igualar con la ambiental, descartando así la representación del enfriamiento mediante la ley de Newton. Esta fórmula tendrá en cuenta el peso y el área corporal, pero no contará la influencia de factores externos, como la ropa, asimismo la curva de enfriamiento representará la disminución progresiva de un cuerpo desnudo, tendido sobre la espalda y situado en un lugar en el que no haya movimiento de aire. En la fórmula que se muestra a continuación[45], encontramos la diferencia entre temperatura rectal y temperatura ambiente ($T_r - T_f$), donde B es igual a $\theta_d - (C/Z - P)$, Z es igual a 0,8 multiplicado por el área del cuerpo entre la masa corporal, C es igual a θ_d multiplicado por Z , θ_d es igual diferencia de temperatura entre recto y ambiente en el momento de la muerte, y P es igual a $\pm 0,4$.

$$T_r - T_f = B \exp(-Zt) + \frac{C}{Z - p} \exp(-pt)$$

Una de las fórmulas con dos exponentes más utilizada es la elaborada por Henssge [54][55]. Los elementos básicos de esta fórmula se basan en la asunción de la existencia del *plateau*, considerando los factores de influencia, como ropa y cobertura. La resolución

de esta mediante el nomograma y la asunción de la temperatura rectal en el momento de la muerte de 37,2°C. Asimismo, contiene una variación en caso de que la temperatura ambiente sea de hasta 23°C o superior, o en caso de descensos repentinos durante el enfriamiento [56]. Podemos observar la formula a continuación, donde T_r hace referencia a la temperatura rectal medida en la escena, T_a es la temperatura ambiente media, y B es igual a $-1,2815 (kg-0,625) + 0,0284$.

- Temperatura de hasta 23°C, donde A es igual a 1,25.

$$Q = \frac{T_r - T_a}{37.2 - T_a} = 1.25 \times \exp(B \times t) - 0.25 \times \exp(5 \times B \times t)$$

- Temperatura ambiente superior a 23°C, donde A es igual a 1,11.

$$Q = \frac{T_r - T_a}{37.2 - T_s} = 1.11 \times \exp(B \times t) - 0.11 \times \exp(10 \times B \times t)$$

En último lugar, contamos con fórmulas que poseen triple exponencial, es el caso de la desarrollada por Al-Alousi [57][58]. Esta medición utiliza como instrumento un sistema de termografía por microondas [59], solo utiliza una medición de la temperatura ambiente y la temperatura corporal. Asimismo, asume que la temperatura en el que se realiza la monitorización del cuerpo es igual a la temperatura en el momento de la muerte. En esta fórmula encontramos R como la ratio de diferencia de la temperatura, P_1-P_6 son parámetros derivados de los estudios y t es el tiempo tras la muerte.

$$R = P_1 e^{P_2 t} + P_3 e^{P_4 t} + P_5 e^{P_6 t}$$

Como ya se ha mencionado a lo largo de la anterior explicación, en un principio se consideraba que el cuerpo humano disminuía su temperatura acorde con la ley de Newton, es decir, *la velocidad a la que pierde calor un objeto caliente enfriándose en el aire es proporcional al exceso de temperatura del objeto sobre aquello que lo rodea*, esto llevó a una subestimación en el IPM al no tenerse en cuenta el *plateau* [44]. Este efecto se basa en el hecho de que el cuerpo no mostrará una disminución de la temperatura hasta pasado un tiempo desde el momento de la muerte, debido al tiempo que tarde en establecerse un gradiente entre el núcleo y la superficie corporal. Aunque diversos autores intentan corregir este error en el cálculo de dichas fórmulas, en algunos casos añadiendo cantidades arbitrarias, no es hasta la fórmula de Marshall y Hoare cuando se representará

con mayor exactitud [60]. Evidentemente, este no es el único factor que afectará al enfriamiento del cadáver, entre ellos encontramos [44]:

- La temperatura inicial a la que se encontraba el cuerpo. La temperatura no es igual para todos los seres humanos y en caso de sufrir alguna enfermedad o de la existencia de trauma puede provocar variaciones en esta, por ejemplo, las infecciones parasitarias pueden aumentar la temperatura entre 4 y 5°C.
- Las dimensiones del cuerpo. Debe conocerse tanto el peso como la altura del cuerpo, la cantidad de grasa subcutánea y abdominal afectará al gradiente de temperatura.
- Postura. Dependiendo de la cantidad de piel que este expuesta al aire, el cadáver se enfriará más rápidamente.
- Ropa y recubrimientos. Dependiendo de la cantidad de capas fabriles que tenga el cuerpo, mantendrá más el calor, mientras que si la ropa está húmeda provocará el efecto contrario, acelerando el enfriamiento.
- Temperatura ambiente. Cuando el cuerpo está situado al aire libre, el descenso de temperatura será más rápido que en una habitación cerrada, así mismo una corriente de aire ayudará al descenso de temperatura.
- El medio que rodea al cadáver. Es habitual que sea aire, pero en ocasiones se puede encontrar en el agua (río, océano, etc.), lo que precipitará el enfriamiento. En caso de que el agua fuese caliente, el cadáver disminuirá su temperatura más lentamente, pudiendo llegar incluso a calentarse.
- Hemorragia. Este suceso producido antes de la muerte puede acelerar el enfriamiento del cuerpo.

Debido a los diversos factores que pueden modificar la temperatura, se elaboró una base de datos con 84 cadáveres y sus respectivas curvas de enfriamiento en condiciones controladas, para utilizar como comparación en situaciones similares [61]. Será de la mano de Henssge [54] con quien se realizarán los primeros experimentos sobre la medición de la temperatura en condiciones no estandarizadas, utilizando factores de corrección dependientes de la masa corporal (Tablas 4 y 5).

Tabla 4. Factores correctores del peso del cadáver en la estimación del IPM por medio de la temperatura rectal.

Ropa/ cobertura seca	En Aire	Factor corrector	Ropa/cobertura mojada cubriendo superficie corporal húmeda	En Aire	En Agua
		0.35	Desnudo		Flotando
		0.5	Desnudo		Quieto
		0.7	Desnudo	Movimiento	
		0.7	1-2 capas finas	Movimiento	
Desnudo	Movimiento	0.75			
1-2 capas finas	Movimiento	0.9	2 o más capas gruesas	Movimiento	
Desnudo	Quieto	1.0			
1-2 capas finas	Quieto	1.1	2 capas gruesas	Quieto	
2-3 capas finas		1.2	Más de 2 capas gruesas	Quieto	
1-2 capas más gruesas	Moviéndose o quieto	1.2			
3-4 capas finas	Moviéndose o quieto	1.3			
Mas capas finas/gruesas	Sin efecto	1.4			
Manta gruesa		1.8			
Manta gruesa y ropa		2.4			
		2.8			

Fuente: adaptada de Madea [6]. Los valores para los factores de corrección se aplican a cuerpos de peso medio (referencia de 70 kg), en una posición extendida sobre una base térmicamente indiferente.

Dependiendo de la superficie en la que encontremos el cuerpo, o su vestimenta, variaremos la aplicación de los factores correctores. Las bases que encontramos en la tabla 4 hacen referencia a suelos de habitación, suelos secos, césped o asfalto. Las bases

tapizadas con un grosos excesivo requieren el uso de un factor de corrección de 1.3 para cuerpos desnudos. En el caso de cuerpos vestidos, el factor corrector debe aumentarse desde 0.1 (ropaje denso) a 0.3 (ropaje liviano). A este respecto cuando se trate de una base aislante, no muy densa, se requiere que el factor sea de entre 1.1 a 1.2 para cuerpos desnudos. Cuando se trate de bases que aceleren el enfriamiento, el factor corrector para cuerpos vestidos será reducido entre 0.1 (ropaje denso) y 0.2 (ropaje liviano).

Tabla 5. Factores de corrección.

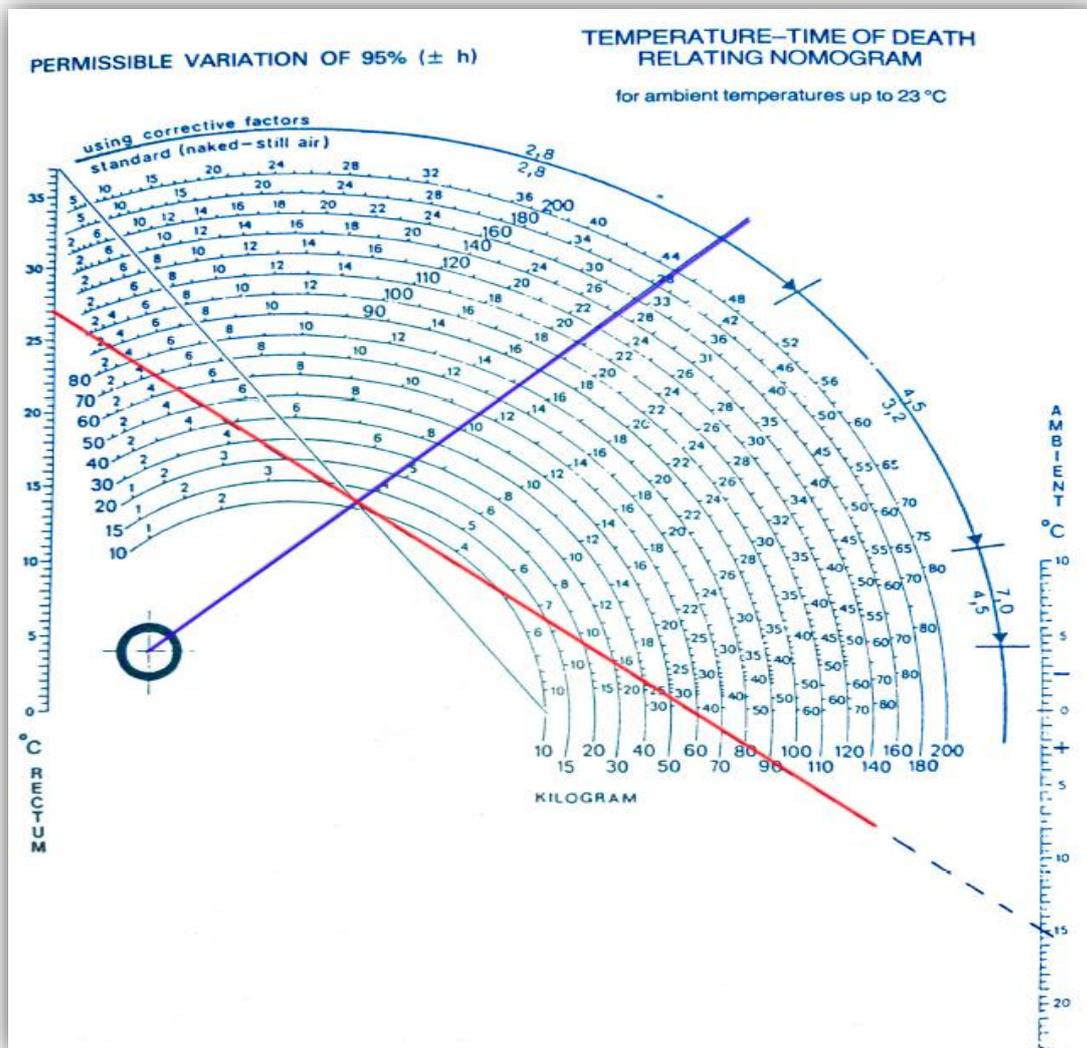
Condiciones de enfriamiento	Peso corporal real (kg)																	
	4	6	8	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150
	Rango promedio																	
										1,3								
Ropa, más capas	1,6	1,6	1,6	1,6	1,5					1,4					1,3	1,2	1,2	1,2
	2,1	2,1	2,0	2,0	1,9	1,8				1,6				1,4	1,4	1,4	1,3	1,3
Colcha	2,7	2,7	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0		1,8			1,6	1,6	1,6	1,4	1,4	1,4
	3,5	3,4	3,3	3,2	2,8	2,6	2,4	2,3		2,0		1,8	1,8	1,7	1,6	1,6	1,5	1,5
	4,5	4,3	4,1	3,9	3,4	3,0	2,8	2,6	2,4	2,2	2,1	2,0	1,9	1,8	1,7	1,7	1,6	1,6
Ropa + colcha	5,7	5,3	5,0	4,8	4,0	3,5	3,2	2,9	2,7	2,4	2,3	2,2	2,1	1,9	1,9	1,8	1,7	1,6
	7,1	6,6	6,2	5,8	4,7	4,0	3,6	3,2	2,9	2,6	2,5	2,3	2,2	2,1	2,0	1,9	1,8	1,7
Colcha de Plumas	8,8	8,1	7,5	7,0	5,5	4,6	3,9	3,5	3,2	2,8	2,7	2,5	2,3	2,2	2,0	1,9	1,8	1,7
	10,9	9,8	8,9	8,3	6,2	5,1	4,3	3,8	3,4	3,0	2,8	2,6	2,4	2,3	2,1	2,0	1,9	1,8

Fuente: adaptado de Madea [6].

Para que el cálculo del IPM se realice de forma más sencilla, se desarrollaron una serie de nomogramas (Figura 3), utilizando la temperatura rectal, la temperatura ambiente y el peso [55]. Se utilizan de la siguiente forma: en primer lugar, se traza una línea entre la temperatura rectal y la temperatura ambiente. En segundo lugar, se dibuja otra línea entre el centro del círculo situado abajo a la izquierda, atravesando la intersección de la primera línea con la línea diagonal, cruzando el círculo más externo ofreciendo un margen de horas de la muerte y con un margen de fiabilidad del 95%. Esta medición puede realizarse con el peso obtenido aplicando condiciones de enfriamiento estándar, o aplicando factores de corrección al mismo. Aunque se trata del método más popular a la hora de determinar la data de la muerte, no está exento de inconvenientes:

- En primer lugar, no puede utilizarse en todas las situaciones, como en caso de radiación fuerte, fiebre, sospecha de hipotermia, que el lugar donde se encontró el cuerpo no es el mismo que el lugar de la muerte, se hayan dado cambios en las condiciones de enfriamiento entre la muerte y la examinación, o en caso de condiciones de enfriamiento inusuales [55].
- En caso de que la temperatura rectal fuese inferior a 37.2°C pueden darse errores a la hora de calcular el IPM [55].

Figura 3. Nomograma para estimar el IPM por medio de la temperatura rectal y peso del cadáver.



Fuente: adaptado de Henssge [45]. En este caso la temperatura rectal es de 27°C. La temperatura ambiente es de 15°C. La línea azul refleja la estimación para diferentes pesos.

- Algunas de las situaciones con factores correctores no fueron calculadas en cadáveres, sino utilizando “dummies”, que mantenían curvas de enfriamiento similares a las humanas [55].
- Se produce una sobrestimación del IPM cuando la masa corporal y el área de superficie corporal aumentan [62].
- Errores en la medición de la temperatura ambiental y la temperatura rectal asumida en el momento de la muerte pueden tener un gran impacto a la hora de calcular el IPM, causando grandes variaciones [63].
- El margen de confianza del 95% también ha sido cuestionado [64].

Debido a las críticas recibidas, en 1988, Henssge et al [65] refinan el procedimiento añadiendo otros métodos no basados en la temperatura (Figura 4), como serían lividez, rigidez, excitabilidad eléctrica y mecánica de los músculos, y excitabilidad química del iris, utilizándolos así para confirmar los intervalos de tiempo obtenidos con el nomograma. La precisión del nomograma fue mejorada en 49 de los 72 casos estudiados [66].

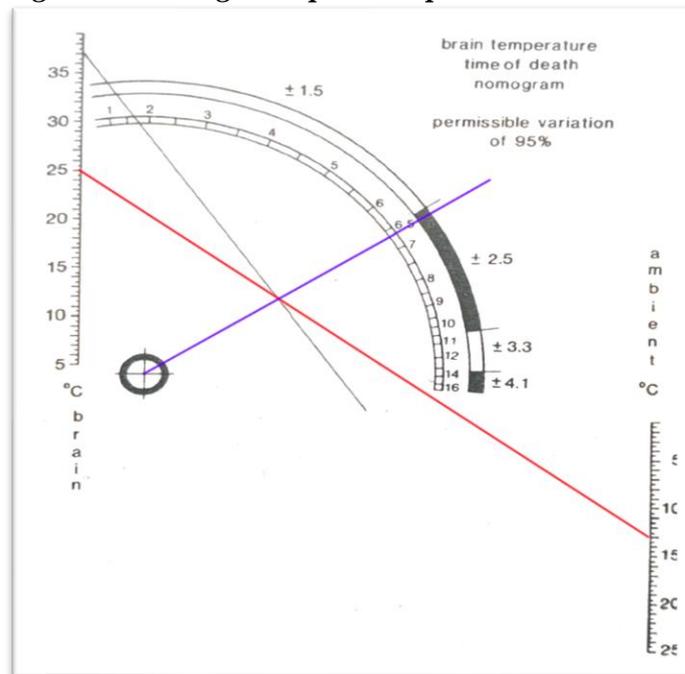
Aunque nos hemos centrado en la temperatura rectal, este no es el único método basado en la temperatura que ha sido estudiado. Es en 1957, de la mano de Lyle y Cleveland [67], cuando se señala que la temperatura cerebral es la más fiable para la determinación de la hora de la muerte en el periodo reciente. Se realizó un estudio de manos de Al-Alousi [68] en el que se miden las curvas de temperatura tanto del hígado, como del cerebro y la rectal, encontrando que la cerebral no tiende a verse afectada por factores como la masa corporal, la ropa o la actividad física reciente, siendo su *plateau* inicial más corto, aunque sí puede verse afectada por el pelo. Acorde con Henssge, combinar la medición de la temperatura rectal y la temperatura cerebral se conseguiría una determinación del IPM todavía más precisa [69]. Para condiciones estándar, también se construyó un nomograma que refleja la temperatura cerebral (Figura 5).

Figura 4. Tabla integradora métodos.

CASE 11/87		DATE 12.01.87		TIME 10.00																																																																						
p. m. LIVIDITY																																																																										
beginning	YES	<input type="checkbox"/>	6	< 3	<input type="checkbox"/> NO																																																																					
confluxion	YES	<input type="checkbox"/>	> 1	< 4	<input type="checkbox"/> NO																																																																					
maximum	YES	<input type="checkbox"/>	> 3	< 16	<input type="checkbox"/> NO																																																																					
thumb pressure	NO	<input type="checkbox"/>	> 1	< 20	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
RIGOR MORTIS																																																																										
beginning	YES	<input type="checkbox"/>	> 0.5	< 7	<input type="checkbox"/> NO																																																																					
maximum	YES	<input type="checkbox"/>	> 2	< 20	<input type="checkbox"/> NO																																																																					
ELECTRICAL EXCITABILITY																																																																										
I upper eyelid nasal part	NO	<input type="checkbox"/>	> 5	< 22	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
II 1/3-2/3 upper eyelid	NO	<input type="checkbox"/>	> 5	< 16	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
III whole upper eyelid	NO	<input type="checkbox"/>	> 3.5	< 13	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
IV plus lower eyelid	NO	<input type="checkbox"/>	> 3	< 8	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
V plus forehead	NO	<input type="checkbox"/>	> 2	< 7	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
VI plus cheek	NO	<input type="checkbox"/>	> 1	< 6	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
orbicularis oris muscle	NO	<input type="checkbox"/>	> 3	< 11	<input type="checkbox"/> YES																																																																					
<table border="1"> <tr> <td>Nomogram</td> <td colspan="22">←</td> </tr> <tr> <td>Routine</td> <td colspan="11">←</td> <td colspan="11">←</td> </tr> <tr> <td>Supplement</td> <td colspan="11">←</td> <td colspan="11">←</td> </tr> </table>						Nomogram	←																						Routine	←											←											Supplement	←											←										
Nomogram	←																																																																									
Routine	←											←																																																														
Supplement	←											←																																																														
idiomuscular contraction	NO	<input type="checkbox"/>	> 1.5	< 2.5	<input type="checkbox"/> YES Zaako's phenom																																																																					
complete shifting of livores after turning the body	NO	<input type="checkbox"/>	> 2	< 6	<input type="checkbox"/> YES complete shifting of livores																																																																					
re- establishment of rigor	NO	<input type="checkbox"/>	> 2	< 8	<input type="checkbox"/> YES re- establishment of rigor																																																																					
Atropine/ Cyclopent	NO	<input type="checkbox"/>	> 3	< 10	<input type="checkbox"/> YES Atropine/ Cyclopent.																																																																					
incomplete shifting of livores after turning the body	NO	<input type="checkbox"/>	> 4	< 13	<input type="checkbox"/> YES idiomuscular contraction																																																																					
Mydriaticum Roche	NO	<input type="checkbox"/>	> 5	< 24	<input type="checkbox"/> YES incomplete shifting of livores after turning the body																																																																					
Acetylcholine	NO	<input type="checkbox"/>	> 14	< 30	<input type="checkbox"/> YES Mydriaticum Roche																																																																					
				< 46	<input type="checkbox"/> YES Acetylcholine																																																																					
RESULT <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> h.p.m.																																																																										
TIME OF DEATH between <input type="checkbox"/> and <input type="checkbox"/>																																																																										

Fuente: adaptado de Henssge [65]. Tabla integradora de todos los métodos

Figura 5. Nomograma para temperatura cerebral.



Fuente: adaptado de Henssge [45]. Ejemplo para temperatura ambiental de 25°C y temperatura ambiental de 14°C.

Debido a que este método posee dificultades para ser utilizado en la práctica de forma rutinaria, se optó por un método alternativo que consiste en la medición de la temperatura de la membrana timpánica, la cual nos otorgaría la temperatura del hipotálamo. No obstante, también posee limitaciones, no puede utilizarse en caso de otorragia o si el oído está apoyado sobre una superficie. De mano de Baccino et al [70], contamos con una fórmula para la determinación del IPM utilizando esta temperatura, en la que A,B, y C son constantes:

$$IPM = A \times \text{Temperatura medida del oído} + B \times \text{Temperatura ambiente} + C$$

En último lugar, y referente a las mediciones de temperatura también podemos contar con la temperatura del globo ocular, ya que parece no poseer un efecto *plateau*, por lo que su combinación con la temperatura rectal ayudaría al cálculo de la data de la muerte [70].

3.2.2. Bioquímica del humor vítreo.

La utilización de métodos bioquímicos también ha sufrido numerosos cambios a lo largo del tiempo, un ejemplo de ello sería el uso de la sangre como muestra [71]. Pero, sin duda, el más estudiado ha sido el humor vítreo, debido a que se encuentra aislado y anatómicamente protegido, haciendo que sea posible su estudio incluso tras un traumatismo craneal. De la misma forma, está menos expuesto a contaminación y al fenómeno de putrefacción, siendo posible utilizarlo a la hora de calcular el IPM en el intervalo reciente [72].

Aunque en el humor vítreo encontramos numerosos elementos, como sodio [73], calcio [74], magnesio [75] o cloro [76], el electrolito que mayor relación tiene con el IPM es el potasio [77], que se difunde desde la retina al cuerpo vítreo [78]. Con tal motivo, las investigaciones se centraron en el análisis de la concentración de potasio, dando lugar a numerosas ecuaciones de regresión lineal (Tabla 6). Aunque no ha sido el único elemento estudiado en cuanto a su relación con el IPM, también se realizaron estudios, como por ejemplo, con la glucosa [73] o el lactato [79].

Las fórmulas no solo difieren en la concentración de potasio inicial del IPM, sino también en la velocidad en la que se eleva el potasio en el humor vítreo. Esto puede ser debido a que este electrolito puede verse afectado por diversos factores:

- La duración del episodio terminal. Existe una menor dispersión del potasio en pacientes con un periodo de agonía inferior a seis horas [79]. Existen, además, alteraciones electrolíticas postmórtem que se reflejarían en el humor vítreo. Madea [79] propone el uso de la urea (U) a modo de medida estándar, concretamente excluyendo muestras con una urea mayor a 100 mg/dl. Esto será retomado posteriormente por Muñoz et al [80], donde se muestra que los mejores resultados se obtienen utilizando niveles de urea menor a 30mg/dl. Si se da un fallo renal se incrementarán los niveles de potasio extracelulares aumentando la concentración de urea [81].
- Temperatura ambiental entre la muerte y la toma de la muestra. Aunque en primera instancia se contemplaba que el potasio aumentaba sin importar la temperatura ambiental [82], Komura et al demostraron que una baja temperatura ambiental enlentecía la concentración de potasio [83]. La velocidad de concentración del K⁺ aumentará cuando la temperatura sea más elevada [84].
- Nivel de alcohol en sangre en el momento de la muerte. Acorde con Sturner et al, *la osmolalidad del humor vítreo se encuentra entre 288 y 323 mOsm/kg, con una retirada del humor vítreo de 1 a 22 horas, con el aumento de alcohol la osmolalidad aumenta proporcionalmente* [85].
- Causa de la muerte. Este aspecto puede verse reflejado de la mano de Muñoz et al [80] para las muertes por ahorcamiento, en el que se muestra un incremento de la pendiente de elevación del potasio.
- Método para la toma de la muestra. El potasio no se distribuye de manera homogénea en el humor vítreo, por lo que se aconseja extraer todo el humor vítreo en una sola ocasión [85]. Asimismo, de esta forma se evita la contaminación sanguínea ante la rotura de vasos capilares [102].
- Instrumento para la toma de la muestra. El método más empleado para esta técnica de determinación del IPM es la fotometría de llama, aunque recientemente también se han utilizado métodos como la cromatografía iónica de baja presión [94] o la electroforesis de zona capilar [103]. Diferentes instrumentos pueden dar lugar a diferencias en las mediciones.

Tabla 6. Relación vitreo potásico en mmol/L e IPM en horas.

Autor	n	Fórmula	Max IPM	Precisión	Comentarios
Sturner [86]	125	$IPM=7.14 [K+] - 39.1$	104 h	± 9.5 h IC95%	-
Adelson [87]	209	$IPM = 5.88 [K+] - 31.53$	24 h	± 10 h IC95%	Si periodo de agonía >6 horas con IC 95% ± 5.75
Hansson [88]	203	$IPM = 5,88 [K+] - 47.1$	310 h	± 40 h IC95%	-
Coe [73]	145	$IPM = 6.15 [K+] - 38.1$	100 h	± 12 h IC95%	Se realizaron dos ecuaciones diferentes para $IPM > 6$ e $IPM < 6$
Stephens y Richards [89]	1427	$IPM= 4.20 [K+] - 26.65$	35 h	± 20 h IC95%	Se excluyeron ahogamientos, congelaciones, quemados, muertes súbitas de la infancia desbalance eléctrico
Madea et al [90]	107	$IPM = 5.26 [K+] - 30,9$	120 h	± 20 h IC95%	Se excluyeron casos con agonía prolongada y con urea elevada.
James et al [91]	100	$IPM = 4,32 [K+] - 18,35$	80 h	± 17 h IC95%	Emplea potasio e hipoxantina
Salam et al [92]		$IPM= 1,337 [K+] + 9.05$		-	-
Mihailovic et al [79]	32	$IPM = 2,749 [K+] - 11,98$	30 h	± 2.8 h IC95%	Repetición de la muestra.

Muñoz et al [93]	133	IPM = 3.92 [K+] - 19.04	40 h	R ² = 0,70	Solo casos no hospitalarios, realiza un cambio de variable, pasando el IPM a ser la dependiente.
	35	IPM= 3,631 [K+] - 17,334	23 h	R ² = 0,818	Excluye cantidad de urea elevada. Mejora la estimación en caso de ahorcamiento.
Zhou et al [94]	62	IPM = 5.88 [K+] - 32.71	23 h	r = 0.8692	-
Jashnani et al [95]	120	IPM = 1.076 [K+] - 2.81	50 h	R ² =0,4871	En su mayoría incluye casos de sepsis o tuberculosis
Bortolotti et al [96]	164	IPM = 5.77 [K+] - 13.28	110 h	-	-
Siddamsetty et al [97]	210	IPM= 4.701 [K+] - 29.06	170	r =0,841	-
Farmer [98]	61	IPM = 0,161 [K+] - 27,31	12	R ² = 0,774	Incluye influencia de la temperatura ambiental
Foster [99]	210	IPM = 6,42 [K+] - 40,94	162 h	R ² = 0,672	-
Zilg et al [100]	462	$* IPM = \frac{\ln\left(\frac{M - C_0}{M - K^+}\right)}{L_0 + m_A A + m_T T}$	409 h	R ² = 0.87	No se excluyó ningún caso. Incluyendo en la ecuación la temperatura y la edad.
Rognum et al [101]	106	*IPM= 5.164 [K+] + 0.174T + [K+] T(-0.100) 19.5	118 h	R ² = 0.89	Análisis de regresión lineal múltiple, que añade la interacción de la temperatura con el potasio y la hipoxantina.

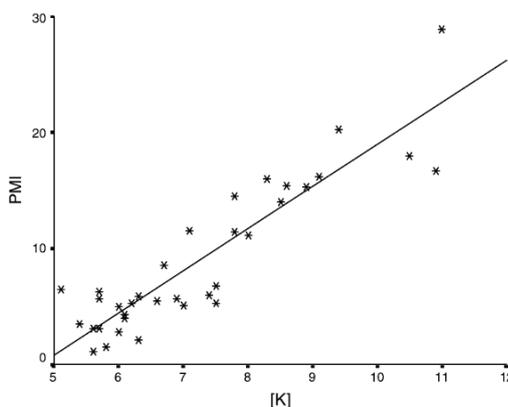
Las formulas marcadas con * surgen tras nuevos avances en el uso de potasio e hipoxantina para la estimación del IPM e IC.

- Edad. La concentración de potasio aumenta más rápidamente en los infantes [102], debido a su menor diámetro ocular, por lo que se producirá una sobreestimación del IPM.
- Tratamiento preanalítico. Debido a que es necesario licuar el humor vítreo antes del análisis, el método empleado para ello puede provocar una variación en la concentración de potasio [103].

Es necesario destacar que en el año 2001, la medición del potasio en el humor vítreo cambia de tendencia, gracias a la publicación realizada por Muñoz et al [80], en la que se recomienda el uso del IPM como variante dependiente y el potasio como variante independiente, ya que se considera que utilizando el IPM como independiente se pueden obtener estimaciones falsas, consiguiendo así una nueva fórmula en la que el cálculo del IPM es mucho más preciso (Figura 6). Fue confirmado posteriormente por Madea et al [104].

De todas formas, este no ha sido el único cambio en la determinación del IPM debido a la utilidad para ello de la hipoxantina (Hx), producto de la degradación de la adenosina [105], que eleva su concentración postmórtem. Es necesario aclarar que la hipoxantina también puede verse modificada en casos de hipoxia, pudiendo aumentar su concentración [106][107]. El estudio de esta llevó, de la misma forma que el potasio, a la realización de varias ecuaciones de regresión lineal por diferentes autores para el cálculo del IPM (Tabla 7).

Figura 6. K+ e IPM.



Fuente: extraído de Muñoz et al [80]. Línea de regresión utilizando el IPM como variable independiente en muertes por ahorcamiento. Solo se incluyen muertes por ahorcamiento.

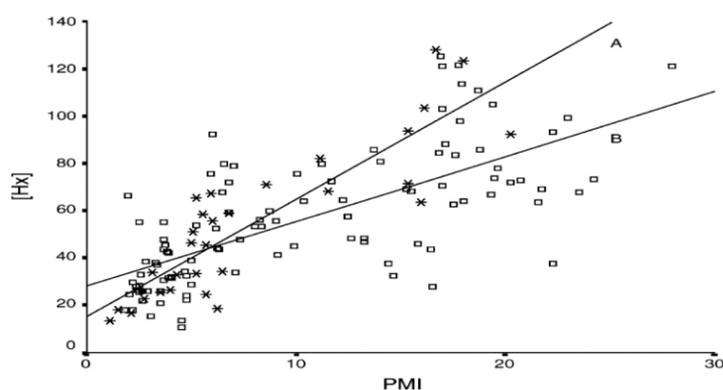
Tabla 7. Relación entre Hx en $\mu\text{mol/L}$ e IPM en horas.

Autor	Ecuación	Fórmula	Comentarios
Rognum et al [84]	$y = 4,2x + 7,6$ a 5°C	-	Tiene en cuenta la influencia de la temperatura ambiental.
	$y = 5,1x + 7,6$ a 10°C		
	$y = 6,2x + 7,6$ a 15°C		
	$y = 8,8x + 7,6$ a 23°C		
Madea et al [105]	$y = 1,29x + 3,69$	-	Relación del Hx con la hipoxia
James et al [91]	$y = 3,2x - 0,15$	$\text{IPM} = 0,31[\text{Hx}] + 0,05$	Emplea en combinación potasio e hipoxantina
Muñoz et al	$y = 3,01x + 26,45$	$\text{IPM} = 0,17 [\text{Hx}] + 0,17$ [80]	El IPM pasa a ser variable dependiente
		$\text{IPM} = 0,183[\text{Hx}] + 0,599$ [108]	Cromatografía líquida de alta de definición para medir la Hx

Fuente: modificado de Madea [104].

Como ocurrió en el caso del potasio en 2001, el cambio del IPM a variable dependiente y la hipoxantina a variable independiente [80], se produjo una mejora en la precisión de este método (Figura 7).

Figura 7. Hx e IPM.



Fuente: extraída de Muñoz et al [80]. Regresión lineal utilizando el IPM como variable independiente, la línea A incluye muertes por ahorcamiento y la línea B muertes sin ahorcamiento.

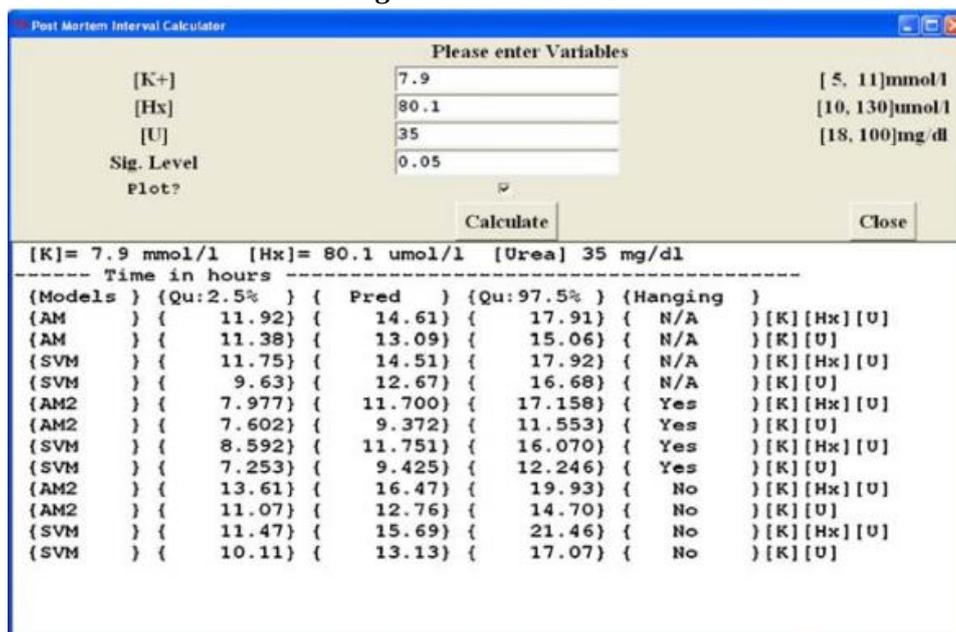
Pero esta no ha sido la única mejora, en 2006 se introduce la cromatografía líquida de alta definición [110], técnica más rápida y eficaz, que permite separar la guanina de la hipoxantina y detectar hasta 0.02 $\mu\text{mol/L}$. En el año 2012, se introduce la espectrometría de masas en tándem [111], que permite evaluar la contaminación en muestras de humor vítreo que no presenta coloración hemática. En el año 2019, se realizó un estudio combinando la hipoxantina y el ácido láctico para la determinación de la data de la muerte [112].

Además de estas técnicas, también contamos con nuevos avances que permiten obtener una muestra más adecuada, como es el caso de la citometría de flujo [109], que busca detectar si las muestras de humor vítreo están contaminadas con sangre, o en el caso de los tratamientos preanalíticos, como en el caso del potasio, a la hora de licuar el humor vítreo.

En todo momento se ha referenciado el hecho de que la relación entre el potasio y el IPM es lineal, pero puede no ser el caso [110], además de que esta linealidad no ha sido verificada desde un punto de vista estadístico [111]. Esto ha despertado la necesidad de introducir nuevos métodos alternativos. Un ejemplo de ello serían los modelos aditivos (AM) en combinación con máquinas vectoriales de soporte (SVM) para determinar el IPM, como en el caso de Muñoz et al [111], el uso de estos métodos mostró una precisión superior en la medición en el humor vítreo de potasio, hipoxantina y urea, que los métodos lineales convencionales.

Para facilitar la estimación de la data de la muerte al añadir diferentes variables, de la mano de Muñoz et al [112], se elaboró un paquete estadístico de software libre denominado *Post Mortem Interval Calculator* (PMICALC), implementado mediante código R, que permite calcular el IPM utilizando las concentraciones de potasio, hipoxantina y urea, teniendo en consideración la causa de la muerte, mediante dos modelos AM y SVM, presentando, además, una expresión numérica del intervalo de confianza, así como un gráfico, en 20 minutos, lo cual puede ser de relevancia en caso de juicio (Figura 8).

Figura 8. PMICALC.



Fuente: extraído de Muñoz et al [112]. Se puede observar los resultados de las estimaciones, los intervalos de confianza para 7,9 mmol/L de K+, 80,1 micromol/L de Hx y 35 mg/dl de urea, para un valor de $p=0,05$

Estas técnicas dieron lugar a las ecuaciones propuestas tanto por Zilg [100], que añade la temperatura ambiente y la edad, como por Rognum [101], que tiene en cuenta la interacción de ambos, potasio e hipoxantina, con la temperatura (Tabla 6). En el año 2017, podemos observar el estudio del humor vítreo y su relación con el IPM, utilizando modelos de regresión lineal múltiple con factores correctivos [113]. Asimismo, Yang et al [114] utilizaron dos nuevos modelos matemáticos relacionando temperatura, la concentración de sustancias y los cambios en el IPM, utilizando para ello técnicas de micro-muestras, y demostrando el efecto de la temperatura ambiental en los resultados, por lo que es necesario tener en cuenta este factor en futuras ecuaciones.

En el año 2019, comprobamos que el refinamiento de esta técnica sigue evolucionando de la mano de Cordeiro et al [115], realizando un estudio examinando 331 muestras de humor vítreo, todas procedentes de muertes repentinas e inesperadas. Se presentaron 5 métodos desarrollados con modelos aditivos, que tienen en consideración la temperatura rectal, la temperatura ambiental, el peso y su relación con el K+, Hx y U. En este estudio se muestra que, incluyendo la temperatura rectal y el peso, se ayuda a una mejor estimación del IPM debido a las posibles fluctuaciones de temperatura ambiental de las que no somos conscientes, mostrando que efectivamente el peso tiene un efecto muy importante en la velocidad de enfriamiento del cadáver. De los 5 modelos propuestos, el

que tiene un menor margen de error es el 3, que incluye la temperatura rectal, la Hx, el K+, la U, el peso y la temperatura ambiental.

De la misma forma, encontramos recientemente el estudio realizado por Pérez et al [116], sobre la influencia que tiene la causa de la muerte o el uso de factores correctivos en la data de la muerte utilizando modelos de regresión múltiple.

3.3. Métodos en desarrollo

Son muchos los cambios que se inician en el cuerpo humano tras la muerte, pero no todos ellos son válidos para la determinación del IPM, y algunos casos su aplicación es demasiado costosa o su técnica todavía está en desarrollo, como ocurre con los métodos que trataremos en este apartado. Es necesario aclarar que algunos de estos métodos pueden no alcanzar una utilidad práctica.

3.3.1. Integridad del ARN y ADN

No es hasta principios del siglo XXI en el que este método comienza a ser relevante, debido a la mejora en las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real [117]. En año 2016, Li et al [118], realizaron una revisión de todos los estudios de origen chino relacionados con la degradación del ARN y el IPM, en especial se considera que los que mejor relación tienen con este fenómeno son el ARN mensajero (mRNA), ARN ribosomal (rRNA), y el microARN (miRNA).

Los estudios que se basan en la cuantificación de ARN tienen una serie de deficiencias [119]. En primer lugar, la mayoría de estudios se centran en estos marcadores para la estimación del IPM tardío, por lo que necesita ser mejorado para la estimación del IPM reciente. Un gran número de estudios se realizaron utilizando una temperatura única en su modelo. Además, se omitieron muchos genes coincidentes en el proceso. Otra limitación es que la tasa de degradación del ARN es diferente dependiendo del tejido del que se obtenga [126].

Bauer [120] fue el primero en proponer que la estabilidad postmórtem del ARN podía verse afectada por diferentes factores, como la temperatura ambiente, el periodo de agonía, etc. Lv et al [121], Ma et al [122] y Lu et al [123] realizaron varios estudios en ratas utilizando una aproximación con marcadores múltiples (mRNA, microRNA, y snRNA) para construir un modelo matemático multiparamétrico, que podría utilizarse

teniendo en cuenta la temperatura y que probó ser muy útil para la determinación del IPM reciente.

Se ha relacionado, también recientemente, la apoptosis con la estimación de la data de la muerte. El estudio se llevó a cabo utilizando la expresión de ARNm de estos genes de autofagia entre las 2 y 8 horas tras la muerte. Mostrando que tanto estos genes, como su implicación en la isquemia, los convierte en candidatos potenciales para el cálculo del IPM reciente [124].

En 2019, Wang et al [119], realizaron un experimento utilizando 4 genes diferentes que tenían una relación con el IPM, teniendo en cuenta también la temperatura y usando el código R. Se demostró que 5srRNA es un buen gen de referencia. Es necesario destacar, que este estudio se realizó exclusivamente en animales.

Este método todavía no está lo suficientemente desarrollado como para ser utilizado en solitario, pero la evolución de este será muy beneficiosa, sobre todo, para el cálculo del IPM reciente. La degradación del ADN también ha sido objeto de estudio, pero lamentablemente ha resultado no ser un buen predictor del IPM [125].

3.3.2. Cambios en tejidos y fluidos

Se han realizado varios estudios con el objetivo de correlacionar diferentes fluidos del cuerpo humano con el IPM. Uno de ellos sería el líquido sinovial, fluido viscoso y transparentes que se encuentra en las articulaciones, más concretamente la concentración de potasio en el propio líquido. Se han realizado muy pocos estudios en cuanto a su correlación con la data de la muerte, un ejemplo de ellos sería el realizado por Madea et al [125] o el realizado por Tumram et al [74], y se han obtenido diferentes fórmulas (Tabla 8). Estos estudios confirman que el potasio sinovial tiene una buena correlación con el intervalo de la muerte, por lo que podría utilizarse para estimar la misma, aunque serán necesarios más estudios.

Asimismo, se ha investigado la concentración de potasio en la sangre, mostrando una relación lineal con el IPM de entre 6 y 90 horas [126]. Igualmente, se establecen relaciones positivas del IPM con el ácido gamma-hidroxi-butírico (GHB) en sangre [127] y el descenso de la concentración de insulina en sangre cardíaca [128].

Tabla 8. Relación líquido sinovial e IPM.

Autor	Ecuación
Madea [125]	$IPM = 7.69 [K+] - 45$
Sahoo [129]	$IPM = 0.113 [K+] + 2.94$
Sheikh [130]	$IPM = 2.20 [K+] + 5.28$
Tumram [131]	$IPM = 2.83[K+] - 15.41$

Fuente: adaptada de Tumram [131].

Otro de los fluidos estudiados, es el líquido cefalorraquídeo, líquido transparente que baña en encéfalo y la médula espinal, pero los resultados han sido menos exitosos que en el caso del líquido sinovial, habiendo además una escasez extrema de estudios [132]. Wyler et al [133] relacionaron positivamente el incremento del número de leucocitos con el IPM, utilizando muestras de líquido cerebrospinal. De la misma forma, Dokgoz et al estudiaron cambios en leucocitos como resultado de la putrefacción y la autólisis [134]. Se investigaron los tejidos gingivales, tanto antemórtem como postmórtem, mostrando cambios por el efecto de autólisis correlacionándolos con el IPM, haciendo que pueda plantearse el uso de este método en la práctica [135].

Ha sido estudiado, igualmente, la conducción eléctrica de los nervios como estimación del IPM de la mano de Straton et al. Los resultados mostraron la existencia de un índice de excitabilidad nerviosa relacionado linealmente con el IPM en los primeros 90 minutos tras la muerte [136]. La dificultad que entraña el cálculo y su utilización hacen que sea una técnica de difícil aplicación.

En el estudio realizado por McDowall et al [67], se estudia el periodo refractario absoluto, periodo de tiempo que acontece después de un potencial de acción en el cual el nervio no es capaz de propagar un nuevo potencial de acción a una estimulación y el IPM. Esta práctica solo resulta útil en los primeros 35 minutos postmórtem.

En 2016, se investigaron los cambios en la conductividad eléctrica y el IPM, encontrando una relación positiva entre ellos. Los niveles de electrolitos en tejidos cambian tras la muerte y debido a la permeabilidad de las células, el líquido intracelular sale de ellas, aumentando los electrolitos en los tejidos, haciendo que la conductividad eléctrica aumente [137].

3.3.3. Otros métodos

Una de las investigaciones que sigue en marcha es aquella basada en la relación de degradación de las proteínas musculares con el IPM [138], aunque todavía necesita una mayor investigación para conseguir un modelo estándar que contenga factores correctores.

Igualmente, se realizaron diferentes estudios para investigar la relación entre el IPM y la inmunohistoquímica, en la que al aumentar el intervalo disminuye la estabilidad de los antígenos [139]. Asimismo, se realizó un estudio similar con la calcitonina [140].

Evidentemente estos no han sido los únicos avances en la determinación de la data de la muerte, sino que también podemos contar con mejoras en los instrumentos. La aparición de la tomografía computarizada [141] es uno de ellos, permitiendo obtener imágenes de cortes tomográficos reconstruidas en planos no transversales. Otro de estos instrumentos sería la cromatografía con espectrometría de masas [142], que consiste en la ionización de fragmentos moleculares.

4. Discusión

Gracias a esta revisión, podemos comprobar que son muchos los métodos para la estimación de la data de la muerte, pero su diferencia fundamental no solo radica en el método empleado sino también en la fiabilidad de sus resultados, lo cual puede ocasionar problemas graves en caso de que esta estimación se lleve a cabo por motivos penales.

La escasa fiabilidad de los métodos basados en la descripción subjetiva, como son el vaciado del contenido gástrico, la excitabilidad farmacológica del iris, la excitabilidad mecánica y eléctrica muscular, la lividez, y la rigidez, hace que sea necesario no utilizar estos métodos, al menos no exclusivamente a la hora de realizar esta estimación, ya que dependiendo del forense que realice la examinación pueden darse unos resultados u otros. Este no es el único motivo, existen una serie de factores que han de tenerse en cuenta, que afectan al proceso postmórtem y hacen que la estimación del IPM resulte más complicada si además se utilizan estos métodos, como son la edad, la temperatura, la humedad, así como en el caso de que actividad animal o de insectos en el cuerpo.

Todas estas razones hacen que la utilización de métodos con descripción objetiva sea más eficaz, ya que cuantifican estos factores y además cuentan con pruebas de precisión. Aunque los investigadores siguen tratando de encontrar nuevos métodos para la

determinación de la data de la muerte, mostrándose estos prometedores, todavía ninguno de ellos ha conseguido superar en precisión a la medición de la temperatura ni a la bioquímica del humor vítreo.

Entre estos dos métodos, el más utilizado para estimar el IPM es el nomograma de Henssge [55], basado en la medición de la temperatura central. Como ya sabemos el cadáver se ve influenciado por diferentes factores, por lo que este autor añade a sus cálculos una serie de correctores empíricos para el peso corporal. Pero este método tampoco está exento de inconvenientes. Existen diferentes condiciones que limitan su uso, por ejemplo, no se recomienda su utilización en caso de hipotermia, ya que asume que la temperatura en el momento de la muerte es de 37.1°C. Este solo debe ser utilizado cuando la temperatura del cuerpo se equilibra con la temperatura ambiental, ya que posee una enorme subjetividad a la hora de escoger el factor corrector y muestra una tendencia a subestimar el IPM con el aumento de la temperatura ambiental, la superficie y la masa corporal.

Es debido a estos motivos por lo que en los últimos años se ha intensificado el uso de la correlación entre diferentes sustancias en el humor vítreo y el IPM. En especial la cuantificación del potasio y la hipoxantina [80]. Esta técnica puede verse afectada por la temperatura ambiental, la causa de la muerte, la edad, y la duración del episodio terminal entre otras, pero también nos permite conocer el margen de error de la medición. Igualmente, con la implementación del PMICALC [112], software libre basado en código R, se obtienen estimaciones más precisas utilizando las concentraciones de potasio, hipoxantina y urea.

Parece evidente entonces sugerir el hecho de que combinar ambos métodos objetivos podría llevar a una estimación más precisa y fiable, combinando la medición de la temperatura rectal, con el peso, y la concentración de potasio, hipoxantina y urea.

5. Conclusiones

Tras esta revisión bibliográfica, podemos afirmar, que la obtención de un IPM preciso sigue siendo un problema actual en la medicina forense. Los primeros estudios sobre la materia se centraron casi exclusivamente en la influencia de un solo factor tras la muerte, pero esto no es correcto. El cuerpo humano, postmórtem, está sometido a numerosos cambios internos además de verse influido por variados factores externos. Teniendo en consideración qué modelos tienen en cuenta estos elementos, cabe afirmar que el mejor

método para la determinación de la data de la muerte radica en la combinación de estos, especialmente en la combinación de métodos con base matemática y estos serán:

- El nomograma realizado por Henssge [65], ya que es un modelo que aporta intervalos de confianza del 95%, además de ser una forma efectiva, práctica y rápida de calcular el IPM.
- Bioquímica del humor vítreo [80], en especial, la utilización del software PMICALC [112], que ayuda a mejorar la precisión y, asimismo, ofrece ayudas visuales, como gráficas, que pueden ser de gran utilidad en el ámbito judicial.

El uso conjunto de métodos basados en parámetros físicos (peso y temperatura) con la bioquímica del HV propuesto por Cordeiro et al [115], en la que se presentan diferentes modelos teniendo en cuenta la temperatura rectal, temperatura ambiental, el peso, y la concentración de potasio, hipoxantina y urea, se muestra como uno de los métodos más fiables a seguir. Aun así, no debemos olvidarnos de los otros métodos, ya que pueden utilizarse para acotar en una primera instancia el intervalo en el que se situará el IPM, o ayudar a confirmar los resultados obtenidos por los métodos matemáticos.

El estudio de la estimación del intervalo postmórtem se encuentra en constante desarrollo, por lo que los métodos mencionados también podrán llegar a proporcionar una mayor fiabilidad en el futuro, como podría ser en el caso de la temperatura cerebral [67] o la degradación del ARN [121].

6. Bibliografía.

- [1] M. Graciela de and B. Gert Daniel Wikler, “La definición de muerte desde las perspectivas filosóficas de Bernard Gert y Daniel Wikler”, *Fil.Ter.Política* 31–32:112–124, 1996. Accessed: May 06, 2020. Available: http://www.fuentesmemoria.fahce.unlp.edu.ar/art_revistas/pr.2563/.
- [2] C. Echeverría B *et al.*, “The diagnosis of death,” *Rev. Med. Chile* 132(1):95–107, 2004, doi: 10.4067/S0034-98872004000100015.
- [3] España. Real Decreto 1723/2012, de 28/12/2012, por el que se regulan las actividades de obtención, utilización clínica y coordinación territorial de los órganos humanos destinados al trasplante y se establecen requisitos de calidad y seguridad. Boletín Oficial Del Estado.
- [4] J. L. Luke, “Forensic pathology”, *J. Can. Soc. Forensic Sci.* 9(4):143–144, 1976, doi: 10.1080/00085030.1976.10757259.
- [5] D. L. Cockle and L. S. Bell, “The environmental variables that impact human decomposition in terrestrially exposed contexts within Canada”, *Sci. Justice*, 57(2):107–117, 2017, doi: 10.1016/j.scijus.2016.11.001.
- [6] B. Madea, "Handbook of Forensic Medicine". Wiley, 2014.
- [7] B. Forster, D. Ropohl, and P. Raule, “A new formula for the measurement of rigor mortis: the determination of the FRR-index”, *Z. Rechtsmed.*, 80(1):51–54, 1977, doi: 10.1007/bf02332347.
- [8] P. Listos, M. Gryzinska, J. Batkowska, M. Grela, and A. Jakubczak, “Algorithm for establishing the time of death of a dog based on temperature measurements in selected sites of the body during the early post-mortem period”, *Forensic Sci. Int.*, 289: 124–129, 2018, doi: 10.1016/j.forsciint.2018.05.004.
- [9] S. Hostiuc, M. C. Rusu, V. S. Mănoiu, A. D. Vrapciu, I. Negoii, and M. V. Popescu, “Usefulness of ultrastructure studies for the estimation of the postmortem interval. A systematic review”, *Rom. Jou. Mor. Embryology*. 58(2):377–384 Editura Academiei Romane , 2017.
- [10] I. Velzen, M. Shaw, Raveendran, Gonzalez-, and J. Rodriguez, “Predictive Models as Screening Tools for DNA Recovery from Baked and Burned Porcine Bones”, *For. Sci. Criminol*, 2(2)1029–1030, 2015.
- [11] J. Guo *et al.*, “Potential use of bacterial community succession for estimating post-mortem interval as revealed by high-throughput sequencing”, *Sci. Reports*. 6:24197–24197, 2016, doi: 10.1038/srep24197.
- [12] L. Li, Y. Wang, J. Wang, M. Ma, and Y. Lai, “Temperature-dependent development and the significance for estimating postmortem interval of *Chrysomya nigripes* Aubertin, a new forensically important species in China”, *Int. J. Legal Med.*, 130(5):1363–1370, 2016, doi: 10.1007/s00414-016-1315-6.
- [13] V. Bugelli *et al.*, “Forensic Entomology and the Estimation of the Minimum Time Since Death in Indoor Cases”, *J. For. Science*, 60(2):525–531, 2015, doi: 10.1111/1556-4029.12647.
- [14] S.-T. Yang and S.-F. Shiao, “Oviposition Preferences of Two Forensically Important Blow Fly Species, *Chrysomya megacephala* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), and Implications for Postmortem Interval Estimation”, *J. Med. Entomol.*, 49(2):424–435, 2012, doi: 10.1603/me11133.

- [15] J. R. Pujol-Luz, P. A. D. C. Francez, A. Ururahy-Rodrigues, and R. Constantino, "The black soldier-fly, *Hermetia illucens* (Diptera, Stratiomyidae), used to estimate the postmortem interval in a case in Amapá State, Brazil", *J. Forensic Sci.*, 53(2):476–478, 2008, doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00659.x.
- [16] Q. Liu, X. Cai, Y. Liu, L. Zhou, S. Yi, and L. Liu, "Spectrophotometric determination of trimethylamine-nitrogen in cadaver tissues for the estimation of late postmortem interval: A pilot study", *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Medical Sci.*, 28(6):630–633, 2008, doi: 10.1007/s11596-008-0603-x.
- [17] Q. Liu, Q. Sun, Y. Liu, L. Zhou, N. Zheng, and L. Liu, "Bioluminescent assay of microbial ATP in postmortem tissues for the estimation of postmortem interval", *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Medical. Sci.*, 29(6): pp. 679–683, 2009, doi: 10.1007/s11596-009-0601-7.
- [18] J. W. Brooks, "Postmortem Changes in Animal Carcasses and Estimation of the Postmortem Interval", *Vet. Pathol.*, vol. 53(5):929–940, 2016, doi: 10.1177/0300985816629720.
- [19] L. Tao *et al.*, "Early postmortem interval estimation based on *Cdc25b* mRNA in rat cardiac tissue", *Leg. Med.*, vol. 35:18–24, 2018, doi: 10.1016/j.legalmed.2018.09.004.
- [20] D. L. Cockle and L. S. Bell, "Human decomposition and the reliability of a 'Universal' model for post mortem interval estimations", *Forensic Sci. Int.*, vol. 253:136, 2015, doi: 10.1016/j.forsciint.2015.05.018.
- [21] L. Tao, J. L. Ma, and L. Chen, "Research progress on estimation of early postmortem interval", *J. For. Medicine*, 32(6):444–447, 25, 2016, doi: 10.3969/j.issn.1004-5619.2016.06.013.
- [22] H. Wang *et al.*, "Early postmortem interval (EPMI) estimation using differentially expressed gene transcripts", *Leg. Med.*, 38:83–91, 2019, doi: 10.1016/j.legalmed.2019.04.008.
- [23] A. E. Maile, C. G. Inoue, L. E. Barksdale, and D. O. Carter, "Toward a universal equation to estimate postmortem interval", *Forensic Sci. Int.*, 272:150–153, 2017, doi: 10.1016/j.forsciint.2017.01.013.
- [24] M. M. Ali, S. F. Ibrahim, and A. A. Fayed, "Using Skin Gene Markers for Estimating Early Postmortem Interval at Different Temperatures", *Forensic Med. Pathol.*, 38(4):323–325, Dec. 2017, doi: 10.1097/PAF.0000000000000337.
- [25] A. S. Yang *et al.*, "Rectal Temperature of Corpse and Estimation of Postmortem Interval", *Fa yi xue za zhi*, NLM (Medline), 35(6):726–732, 2019, doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2019.06.015.
- [26] K. M. Choi *et al.*, "Postmortem proteomics to discover biomarkers for forensic PMI estimation", *Int. J. Legal Med.*, 133(3):899–908, 2019, doi: 10.1007/s00414-019-02011-6.
- [27] Q. Wang, H. C. Lin, J. R. Xu, P. Huang, and Z. Y. Wang, "Current Research and Prospects on Postmortem Interval Estimation", *J. For. Medicine*, vol. 34(5):459–467, 2018, doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2018.05.002.
- [28] M. M. Houck, "Forensic Pathology". Elsevier Science, 2016.
- [29] J. Prahlow, "Forensic pathology for police, death investigators, attorneys, and forensic scientists". Humana Press, 2010.
- [30] A. Klein and S. Klein, "Die Todeszeitbestimmung am menschlichen Auge", Dresden University. MD thesis, 1978.

- [31] B. Madea, "Estimation of the Time Since Death". CRC Press, 2015.
- [32] L. Barraquer-Bordas, "Two classes of induced muscular activity: neuromuscular and idiomuscular; physiopathological and clinical synopsis", *Arq. Neuropsiquiatr.*, 8(4): 335–344, 1950, doi: 10.1590/S0004-282X1950000400002.
- [33] S. Warther, S. Sehner, T. Raupach, K. Püschel, and S. Anders, "Estimation of the time since death: Post-mortem contractions of human skeletal muscles following mechanical stimulation (idiomuscular contraction)", *Int. J. Legal Med.*, 126(3):399–405, 2012, doi: 10.1007/s00414-011-0665-3.
- [34] B. Madea and C. Henssge, "Electrical excitability of skeletal muscle postmortem in casework", *Forensic Sci. Int.*, 47(3):207–227, 1990, doi: 10.1016/0379-0738(90)90291-6.
- [35] O. Prilozi and V. Poposka, "Estimation of time since death through electric and chemical excitability of muscles", *Contrib. Sec. Biol. Med. Sci., MASA, XXXII*, 1: 211–218, 2011.
- [36] B. Madea and A. Rödiger, "Precision of estimating the time since death using different criteria of supravital muscular excitability", *Forens Sci Med Pathol*, 2(2):127-133, 2006, doi: 10.1385/FSMP:2:2:127.
- [37] Henssge C. "Methoden zur Bestimmung der Todeszeit – Leichenabkühlung und Todeszeit-bestimmung". Diss. B. Humboldt-Universität, Berlin, 1982.
- [38] M. Bohnert, K. Schulz, L. Belenkaia, and A. W. Liehr, "Re-oxygenation of haemoglobin in livores after post-mortem exposure to a cold environment", *Int. J. Legal Med.*, 122(2):91–96, 2008, doi: 10.1007/s00414-007-0162-x.
- [39] Mallach H. "Zur Frage der Todeszeitbestimmung". *Berl. Med.* 1964; 18: 577-582.
- [40] T. Noriko, "Immunohistochemical studies on postmortem lividity", *Forensic Sci. Int.*, 72(3):179–189, 1995, doi: 10.1016/0379-0738(95)01702-K.
- [41] M. Kobayashi, T. Takatori, K. Iwadate, and M. Nakajima, "Reconsideration of the sequence of rigor mortis through postmortem changes in adenosine nucleotides and lactic acid in different rat muscles", *Forensic Sci. Int.*, 82(3):243–253, 1996, doi: 10.1016/S0379-0738(96)02005-1.
- [42] Krause D, Zett L. "Physiologische und morphologische Untersuchungen zu Mechanismus und Verlauf der Totenstarre", *Z. Rechtsmed.* (72):245-54, 1973.
- [43] S. Yasojima, "Postmortem changes", *Japanese J. Leg. Med.*, 25(3):192–197, 1971, doi: 10.5005/jp/books/14210_11.
- [44] P. Saukko and B. Knight, "Knight's Forensic Pathology Fourth Edition". Arnold, 2013.
- [45] C. Henssge and B. Knight, "The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period". Edward Arnold, 1995.
- [46] Erdös T. "Rigor, contracture and ATP". *Stud. InstMed. Chem. Univ. Szegez*; 3:51-56, 1943.
- [47] J. Davy, "Researches: Physiological and Anatomical", *Br Foreign Med Rev.*, 12(23):129–149, 1841.
- [48] A. Moritz, "The pathology of trauma". Philadelphia: Lea and Febiger, 1954.
- [49] H. Rainy, "On the Cooling of Dead Bodies as Indicating the Length of Time That Has Elapsed Since Death.", *Glasgow Med. J.*, 1(3):323–330, 1869, Accessed: May 07, 2020. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30432687>.
- [50] Fiddes FS, Patten TD. A percentage method for representing the fall in body temperature

after death. *J. Forensic Med.*, 5 (1):2-15, 1958.

- [51] G. S. W. de Saram, G. Webster, and N. Kathirgamatamby, "Post-Mortem Temperature and the Time of Death", *J. Crim. Law. Criminol. Police Sci.*, 46(4):562, 1955, doi: 10.2307/1139735.
- [52] M. A. Green and J. C. Wright, "Postmortem interval estimation from body temperature data only", *Forensic Sci. Int.*, 28(1):35–46, 1985, doi: 10.1016/0379-0738(85)90163-X.
- [53] A. Brown and T. K. Marshall, "Body temperature as a means of estimating the time of death", *Forensic Sci.*, 4:125–133, 1974, doi: 10.1016/0300-9432(74)90093-4.
- [54] C. Henßge, "Die Präzision von Todeszeitschätzungen durch die mathematische Beschreibung der rektalen Leichenabkühlung", *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, 83(1):49–67, 1979, doi: 10.1007/BF00201311.
- [55] C. Henssge, "Death time estimation in case work. I. The rectal temperature time of death nomogram", *Forensic Sci. Int.*, 38(3–4):209–236, 1988, doi: 10.1016/0379-0738(88)90168-5.
- [56] L. Althaus and C. Henssge, "Rectal temperature time of death nomogram: Sudden change of ambient temperature", *Forensic Sci. Int.*, 99(3):171–178, 1999, doi: 10.1016/S0379-0738(98)00188-1.
- [57] L. M. Al-Alousi, R. A. Anderson, D. M. Worster, and D. D. Land, "Multiple-Probe Thermography for Estimating the Postmortem Interval: I. Continuous Monitoring and Data Analysis of Brain, Liver, Rectal and Environmental Temperatures in 117 Forensic Cases", *J. Forensic Sci.*, 46(2):317-22, 2001, doi: 10.1520/jfs14964j.
- [58] L. M. Al-Alousi, R. A. Anderson, D. M. Worster, and D. D. Land, "Multiple-Probe Thermography for Estimating the Postmortem Interval: II. Practical Versions of the Triple-Exponential Formulae (TEF) for Estimating the Time of Death in the Field", *J. Forensic Sci.*, 46(2):323-327, Mar. 2001, doi: 10.1520/jfs14965j.
- [59] Al Alousi L, Anderson R. "Microwave thermography in forensic medicine". *Police Surgeon*. 30: 30-42. 1986.
- [60] J. L. Smart and M. Kaliszan, "The post mortem temperature plateau and its role in the estimation of time of death. A review", *Tokyo Leg. Medicine*, 14(2):55-62, 2012, doi: 10.1016/j.legalmed.2011.11.002.
- [61] H. Muggenthaler, I. Sinicina, M. Hubig, and G. Mall, "Database of post-mortem rectal cooling cases under strictly controlled conditions: A useful tool in death time estimation", *Int. J. Legal Med.*, 126(1):79-87, 2012, doi: 10.1007/s00414-011-0573-6.
- [62] M. Hubig, H. Muggenthaler, I. Sinicina, and G. Mall, "Temperature based forensic death time estimation: The standard model in experimental test", *Leg. Med.*, 17(5):381–387, 2015, doi: 10.1016/j.legalmed.2015.05.005.
- [63] M. Hubig, H. Muggenthaler, I. Sinicina, and G. Mall, "Body mass and corrective factor: Impact on temperature-based death time estimation", *Int. J. Legal Med.*, 125(3):437–444, 2011, doi: 10.1007/s00414-011-0551-z.
- [64] M. Hubig, H. Muggenthaler, and G. Mall, "Confidence intervals in temperature-based death time determination", *Leg. Med.*, 17(1):48–51, 2015, doi: 10.1016/j.legalmed.2014.08.002.
- [65] C. Henssge, B. Madea, and E. Gallenkemper, "Death time estimation in case work. II. Integration of different methods", *Forensic Sci. Int.*, 39(1):77–87, 1988, doi: 10.1016/0379-0738(88)90120-X.

- [66] C. Henssge *et al.*, “Experiences with a compound method for estimating the time since death. II. Integration of non-temperature-based methods”, *Int. J. Legal Med.*, 113(6):320–331, 2000, doi: 10.1007/s004149900090.
- [67] C. Henßge and B. Madea, “Estimation of the time since death in the early post-mortem period”, *Forensic Sci. Int.*, 144:167–175, 2004, doi: 10.1016/j.forsciint.2004.04.051.
- [68] L. M. Al-Alousi, “A study of the shape of the post-mortem cooling curve in 117 forensic cases”, *Forensic Sci. Int.*, 125(2–3):237–44, 2002, doi: 10.1016/S0379-0738(01)00651-X
- [69] C. Henßge, R. Frekers, Reinhardt, and E. R. Beckmann, “Determination of time of death on the basis of simultaneous measurement of brain and rectal temperature”, *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, 93(2):123–133, 1984, doi: 10.1007/BF00200771.
- [70] E. Baccino *et al.*, “Outer ear temperature and time of death”, *Forensic Sci. Int.*, 83(2):133–46, 1996, doi: 10.1016/s0379-0738(96)02027-0.
- [71] Y. Kominato, K. Kumada, K. Yamazaki, and S. Misawa, “Estimation of postmortem interval using kinetic analysis of the third component of complement (C3) cleavage”, *J. Forensic Sci.*, 34(1):207-217 1989, Accessed: May 13, 2020. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2918280>.
- [72] G. Adjutantis and A. Coutselinis, “Estimation of the time of death by potassium levels in the vitreous humour”, *Forensic Sci.*, 1(1):55–60, 1972, doi: 10.1016/0300-9432(72)90147-1.
- [73] J. I. Coe, “Postmortem Chemistries on Human Vitreous Humor”, *Am. J. Clin. Pathol.*, 51(6):741–750, 1969, doi: 10.1093/ajcp/51.6.741.
- [74] N. K. Tumram, R. V. Bardale, and A. P. Dongre, “Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: A comparative study”, *Forensic Sci. Int.*, 204(1–3):186–190, 2011, doi: 10.1016/j.forsciint.2010.06.007.
- [75] J. G. Farmer, F. Benomran, A. A. Watson, and W. A. Harland, “Magnesium, potassium, sodium and calcium in post-mortem vitreous humour from humans”, *Forensic Sci. Int.*, 27(1):1–13, 1985, doi: 10.1016/0379-0738(85)90099-4.
- [76] K. D. Jashnani, S. A. Kale, and A. B. Rupani, “Vitreous humor: Biochemical constituents in estimation of postmortem interval”, *J. Forensic Sci.*, 55(6):1523–1527, 2010, doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01501.x.
- [77] Y. Q. Chen, J. F. Cai, and J. F. Wen, “Advances in the studies of postmortem interval estimation by the levels of chemical components in human vitreous humor after death”, *Fa Yi Xue Za Zhi*, 25(1):53–56, 2009, doi: 10.3969/j.issn.1004-5619.2009.01.019.
- [78] L. Z. Bito, “Intraocular fluid dynamics. I. Steady-state concentration gradients of magnesium, potassium and calcium in relation to the sites and mechanisms of ocular cation transport processes”, *Exp. Eye Res.*, 10(1):102–116, 1970, doi: 10.1016/S0014-4835(70)80016-1.
- [79] Z. Mihailovic, T. Atanasijevic, V. Popovic, M. B. Milosevic, and J. P. Sperhake, “Estimation of the postmortem interval by analyzing potassium in the vitreous humor: Could repetitive sampling enhance accuracy?”, *Am. J. Forensic Med. Pathol.*, 33(4):400–403, Dec. 2012, doi: 10.1097/PAF.0b013e31826627d0.
- [80] J. I. Muñoz Barús *et al.*, “Improved estimation of postmortem interval based on differential behaviour of vitreous potassium and hypoxantine in death by hanging”, *Forensic Sci. Int.*, 125(1):67–74, 2002, doi: 10.1016/s0379-0738(01)00616-8.
- [81] J. Ortmann, P. Markwerth, and B. Madea, “Precision of estimating the time since death by

- vitreous potassium—Comparison of 5 different equations”, *Forensic Sci. Int.*, 269:1–7, 2016, doi: 10.1016/j.forsciint.2016.10.005.
- [82] J. T. Lie, “Changes of potassium concentration in the vitreous humor after death”, *Am. J. Med. Sci.*, 254(2):136–143, 1967, doi: 10.1097/00000441-196708000-00002.
- [83] S. Oshiro, “Potassium Levels in the Aqueous and Vitreous Humor after Death”, *Tohoku J. Exp. Med.*, 122(1):65–68, 1977, doi: 10.1620/tjem.122.65.
- [84] T. O. Rognum, S. Hauge, S. Øyasaeter, and O. D. Saugstad, “A new biochemical method for estimation of postmortem time”, *Forensic Sci. Int.*, 51(1):139–146, 1991, doi: 10.1016/0379-0738(91)90214-4.
- [85] W. Q. Sturmer, A. B. C. Dowdey, R. S. Putnam, and J. L. Dempsey, “Osmolality and Other Chemical Determinations in Postmortem Human Vitreous Humor”, *J. Forensic Sci.*, 17(3):387-393, 1972, doi: 10.1520/jfs173720387.
- [86] W. Q. Sturmer and G. E. Gantner, “The postmortem interval. a study of potassium in the vitreous humor”, *Am. J. Clin. Pathol.*, 42:137-44 1964, doi: 10.1093/ajcp/42.2.137.
- [87] L. Adelson, I. Sunshine, N. B. Rushforth, and M. Mankoff, “Vitreous potassium concentration as an indicator of the postmortem interval”, *J. Forensic Sci.*, (4):503-514 1963, Accessed: May 13, 2020. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14070464>.
- [88] L. Hansson, U. Uotila, R. Lindfors, and K. Laiho, “Potassium content of the vitreous body as an aid in determining the time of death”, *J. Forensic Sci.*, 11(3):390-394. 1966, Accessed: May 13, 2020. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5967742>.
- [89] R. J. Stephens and R. G. Richards, “Vitreous Humor Chemistry: The Use of Potassium Concentration for the Prediction of the Postmortem Interval”, *J. Forensic Sci.*, 32(2):503-509, 1987, doi: 10.1520/jfs11152j.
- [90] B. Madea, C. Henssge, W. Hönig, and A. Gerbracht, “References for determining the time of death by potassium in vitreous humor”, *Forensic Sci. Int.*, 40(3):231-243, 1989, doi: 10.1016/0379-0738(89)90181-3.
- [91] R. A. James, P. A. Hoadley, and B. G. Sampson, “Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour”, *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 18(2):158-162, 1997, doi: 10.1097/00000433-199706000-00010.
- [92] H. A. Salam, E. A. Shaat, M. H. A. Aziz, A. A. MoneimSheta, and H. A. S. M. Hussein, “Estimation of postmortem interval using thanatochemistry and postmortem changes”, *Alexandria J. Med.*, 48(4):335–344, 2012, doi: 10.1016/j.ajme.2012.05.004.
- [93] J. I. Muñoz *et al.*, “, A New Perspective in the Estimation of Postmortem Interval (PMI) Based on Vitreous [K +] “, *J. Forensic Sci.*, 46(2):209-214 2001, doi: 10.1520/jfs14950j.
- [94] B. Zhou, L. Zhang, G. Zhang, X. Zhang, and X. Jiang, “The determination of potassium concentration in vitreous humor by low pressure ion chromatography and its application in the estimation of postmortem interval”, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 852(1-2):278-81, 2007, doi: 10.1016/j.jchromb.2007.01.027.
- [95] K. D. Jashnani, S. A. Kale, and A. B. Rupani, “Vitreous humor: Biochemical constituents in estimation of postmortem interval”, *J. Forensic Sci.*, 55(6):1523-7, 2010, doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01501.x.
- [96] F. Bortolotti, J. P. Pascali, G. G. Davis, F. P. Smith, R. M. Brissie, and F. Tagliaro, “Study of vitreous potassium correlation with time since death in the postmortem range from 2 to 110 hours using capillary ion analysis”, *Med. Sci. Law*, 51 Suppl 1:S20-23, 2011, doi:

10.1258/msl.2010.010063.

- [97] W. Q. Sturner, "Postmortem Vitreous Humor Chemistry in Sudden Infant Death Syndrome and in Other Causes of Death in Childhood", *Am. J. Clin. Pathol.*, v 71(2):219-223, 1979, doi: 10.1093/ajcp/72.3.493.
- [98] J. G. Farmer, F. Benomran, A. A. Watson, and W. A. Harland, "Magnesium, potassium, sodium and calcium in post-mortem vitreous humour from humans", *Forensic Sci. Int.*, 27(1):1-13, 1985, doi: 10.1016/0379-0738(85)90099-4.
- [99] S. N. Foster, P. R. Smith, M. Biggs, G. N. Ruddy, F. E. Hollingbury, and S. R. Morley, "Estimation of postmortem interval using vitreous potassium levels in cases of fatal road traffic collision", *Arch. Med. Sadowej Kryminol.*, 66(2):71-82, 2016, doi: 10.5114/amsik.2016.63866.
- [100] B. Zilg, S. Bernard, K. Alkass, S. Berg, and H. Druid, "A new model for the estimation of time of death from vitreous potassium levels corrected for age and temperature", *Forensic Sci. Int.*, 254:158-66, 2015, doi: 10.1016/j.forsciint.2015.07.020.
- [101] T. O. Rognum *et al.*, "Estimation of time since death by vitreous humor hypoxanthine, potassium, and ambient temperature", *Forensic Sci. Int.*, 262:160-5, 2016, doi: 10.1016/j.forsciint.2016.03.001.
- [102] J. I. Coe, "Vitreous potassium as a measure of the postmortem interval: An historical review and critical evaluation", *Forensic Sci. Int.*, 42(3):201-13, 1989, doi: 10.1016/0379-0738(89)90087-X.
- [103] S. A. Blana, F. Mußhoff, T. Hoeller, R. Fimmers, and B. Madea, "Variations in vitreous humor chemical values as a result of pre-analytical treatment", *Forensic Sci. Int.*, 210(1-3):263-70, 2011, doi: 10.1016/j.forsciint.2011.03.023.
- [104] B. Madea, "Methods for determining time of death", *Forensic Sci. Med. Pathol.*, 12(4):451-485, 2016, doi: 10.1007/s12024-016-9776-y.
- [105] B. Madea, H. Käferstein, N. Hermann, and G. Sticht, "Hypoxanthine in vitreous humor and cerebrospinal fluid - a marker of postmortem interval and prolonged (vital) hypoxia? Remarks also on hypoxanthine in SIDS", *Forensic Sci. Int.*, 65(1):19-31, 1994, doi: 10.1016/0379-0738(94)90296-8.
- [106] O. D. Saugstad and T. O. Rognum, "High Postmortem Levels of Hypoxanthine in the Vitreous Humor of Premature Babies With Respiratory Distress Syndrome", *Pediatrics*, 81(3):395-398, 1988.
- [107] T. O. Rognum, O. D. Saugstad, S. Øyasæter, and B. Olaisen, "Elevated Levels of Hypoxanthine in Vitreous Humor Indicate Prolonged Cerebral Hypoxia in Victims of Sudden Infant Death Syndrome", *Pediatrics*, 82(4):615-618, 1988.
- [108] J. I. Muñoz, E. Costas, M. S. Rodríguez-Calvo, J. M. Suárez-Peñaranda, M. López-Rivadulla, and L. Concheiro, "A high-performance liquid chromatography method for hypoxanthine determination in vitreous humour: Application to estimation of post mortem interval", *Hum. Exp. Toxicol.*, 25(5):279-281, 2006, doi: 10.1191/0960327106ht615oa.
- [109] C. Cordeiro *et al.*, "The Application of Flow Cytometry as a Rapid and Sensitive Screening Method to Detect Contamination of Vitreous Humor Samples and Avoid Miscalculation of the Postmortem Interval", *J. Forensic Sci.*, 60(5):1346-1349, 2015, doi: 10.1111/1556-4029.12784.
- [110] N. Lange, S. Swearer, and W. Q. Sturner, "Human postmortem interval estimation from vitreous potassium: an analysis of original data from six different studies", *Forensic Sci. Int.*, 66(3):159-174, 1994, doi: 10.1016/0379-0738(94)90341-7.

- [111] J. I. M. Barús, M. Febrero-Bande, and C. Cadarso-Suárez, “Flexible regression models for estimating postmortem interval (PMI) in forensic medicine”, *Stat. Med.*, 27(24):5026-5038 2008, doi: 10.1002/sim.3319.
- [112] J. I. Muñoz-Barús, M. S. Rodríguez-Calvo, J. M. Suárez-Peñaranda, D. N. Vieira, C. Cadarso-Suárez, and M. Febrero-Bande, “PMICALC: An R code-based software for estimating post-mortem interval (PMI) compatible with Windows, Mac and Linux operating systems”, *Forensic Sci. Int.*, 194(1-3):49-52, 2010, doi: 10.1016/j.forsciint.2009.10.006.
- [113] G. Prieto-Bonete, I. Legaz, C. Pérez-Martínez, M. D. Pérez-Cárceles, and A. Luna, “Biochemical correction factors to estimation of post-mortem interval in vitreous humor”, *Rom. J. Leg. Med.*, 25(2):201-204, 2017, doi: 10.4323/rjlm.2017.201.
- [114] M. Yang *et al.*, “A Study on the Estimation of Postmortem Interval Based on Environmental Temperature and Concentrations of Substance in Vitreous Humor”, *J. Forensic Sci.*, 63(3):745-751, 2018, doi: 10.1111/1556-4029.13615.
- [115] C. Cordeiro, L. Ordóñez-Mayán, E. Lendoiro, M. Febrero-Bande, D. N. Vieira, and J. I. Muñoz-Barús, “A reliable method for estimating the postmortem interval from the biochemistry of the vitreous humor, temperature and body weight”, *Forensic Sci. Int.*, 295:157-168, 2019, doi: 10.1016/j.forsciint.2018.12.007.
- [116] C. Pérez-Martínez, G. Prieto Bonete, M. D. Pérez-Cárceles, and A. Luna, “Influence of the nature of death in biochemical analysis of the vitreous humour for the estimation of post-mortem interval”, *Aust. J. Forensic Sci.*, 2019, doi: 10.1080/00450618.2019.1593503.
- [117] H. Inoue, A. Kimura, and T. Tuji, “Degradation profile of mRNA in a dead rat body: Basic semi-quantification study”, *Forensic Sci. Int.*, 130(2-3):127-132, 2002, doi: 10.1016/S0379-0738(02)00352-3.
- [118] C. Li *et al.*, “Research progress in the estimation of the postmortem interval by Chinese forensic scholars”, *Forensic Sci. Res.*, 1(1):3–13, 2016, doi: 10.1080/20961790.2016.1229377.
- [119] H. Wang *et al.*, “Early postmortem interval (EPMI) estimation using differentially expressed gene transcripts”, *Leg. Med.*, 38:83–91, 2019, doi: 10.1016/j.legalmed.2019.04.008.
- [120] M. Bauer, “RNA in forensic science”, *Forensic Sci Int Genet.*, 1(1):69-74, 2007, doi: 10.1016/j.fsigen.2006.11.002.
- [121] Y. H. Lv *et al.*, “A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA changes to estimate PMI in deceased rat’s spleen”, *J. Forensic Sci.*, 59(5):1286-1294, 2014, doi: 10.1111/1556-4029.12447.
- [122] J. Ma *et al.*, “Exploration of the R code-based mathematical model for PMI estimation using profiling of RNA degradation in rat brain tissue at different temperatures”, *Forensic Sci. Med. Pathol.*, 11(4):530-7, 2015, doi: 10.1007/s12024-015-9703-7.
- [123] Y. H. Lü *et al.*, “Correlation between RNA degradation patterns of rat’s brain and early PMI at different temperatures”, *J. Forensic Med.*, 32(3):165-170, 2016, doi: 10.3969/j.issn.1004-5619.2016.03.002.
- [124] P. N. Martínez, S. T. Menéndez, M. de los Á. Villaronga, D. H. Ubelaker, J. M. García-Pedrero, and S. C. Zapico, “The big sleep: Elucidating the sequence of events in the first hours of death to determine the postmortem interval,”, *Sci. Justice*, 59(4):418–424, 2019, doi: 10.1016/j.scijus.2019.03.001.

- [125] B. Madea, "Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry?", *Forensic Sci. Int.*, 151(2-3):139-49, 2005, doi: 10.1016/j.forsciint.2005.01.013.
- [126] D. Querido, "Double logarithmic, linear relationship between plasma sodium/potassium concentration ratio and postmortem interval during the 6-96-h postmortem period in rats", *Forensic Sci. Int.*, 44(2-3):125-34, 1990, doi: 10.1016/0379-0738(90)90242-Q.
- [127] A. L. Castro, S. Tarelho, M. Dias, F. Reis, and H. M. Teixeira, "Comparison of endogenous GHB concentrations in blood and hair in death cases with emphasis on the post mortem interval", *Int. J. Legal Med.*, 130(4):959-965, 2016, doi: 10.1007/s00414-016-1321-8.
- [128] S. Kumar and A. K. Verma, "Estimation of postmortem interval using the data of insulin level in the cadaver's blood", *Data Br.*, 7:354-356, 2016, doi: 10.1016/j.dib.2016.02.059.
- [129] Shaoo PC, Mohanty NK. "Study of sodium, potassium and glucose. level in synovial fluid for estimation of death interval". *J Forensic. Med Toxicol.* 15(1):14-16. 1998.
- [130] N. A. Sheikh, "Estimation of postmortem interval according to time course of potassium ion activity in cadaveric synovial fluid", *J. Forensic Med.*, 1(2):45-49, 2007.
- [131] N. K. Tumram, V. N. Ambade, and A. P. Dongre, "Thanatochemistry: Study of synovial fluid potassium", *Alexandria J. Med.*, 50(4):369-372, Dec. 2014, doi: 10.1016/j.ajme.2014.02.005.
- [132] E. J. Finehout, Z. Franck, N. Relkin, and K. H. Lee, "Proteomic analysis of cerebrospinal fluid changes related to postmortem interval", *Clin. Chem.*, 52(10):1906-1913, 2006, doi: 10.1373/clinchem.2006.070508.
- [133] D. Wyler, W. Marty, and W. Bär, "Correlation between the post-mortem cell content of cerebrospinal fluid and time of death", *Int. J. Legal Med.*, 106(4):194-199, 1994, doi: 10.1007/BF01371336.
- [134] H. Dokgöz, N. Arican, I. Elmas, and S. K. Fincanci, "Comparison of morphological changes in white blood cells after death and in vitro storage of blood for the estimation of postmortem interval", *Forensic Sci. Int.*, 124(1):25-31, 2001, doi: 10.1016/S0379-0738(01)00559-X.
- [135] V. Mahalakshmi, N. Gururaj, R. Sathya, T. Sabarinath, B. Sivapathasundharam, and S. Kalaiselvan, "Assessment of histological changes in antemortem gingival tissues fixed at various time intervals: A method of estimation of postmortem interval", *J. Forensic Dent. Sci.*, 8(2):114, 2016, doi: 10.4103/0975-1475.186373.
- [136] K. J. Straton, A. Busuttil, and M. A. Glasby, "Nerve conduction as a means of estimating early post-mortem interval", *Int. J. Legal Med.*, 105(2):69-74, 1992, doi: 10.1007/BF02340826.
- [137] I. Cantürk, F. Karabiber, S. Çelik, M. F. Şahin, F. Yağmur, and S. Kara, "An experimental evaluation of electrical skin conductivity changes in postmortem interval and its assessment for time of death estimation", *Comput. Biol. Med.*, 69:92-6, 2016, doi: 10.1016/j.combiomed.2015.12.010.
- [138] S. Pittner *et al.*, "First application of a protein-based approach for time since death estimation", *Int. J. Legal Med.*, 131(2):479-483, 2017, doi: 10.1007/s00414-016-1459-4.
- [139] J. Ortmann, E. Doberentz, and B. Madea, "Immunohistochemical methods as an aid in estimating the time since death", *Forensic Sci. Int.*, 273:71-79, 2017, doi: 10.1016/j.forsciint.2017.02.004.

- [140] F. Wehner, H. D. Wehner, and J. Subke, "Delimitation of the time of death by immunohistochemical detection of glucagon in pancreatic α -cells", *Forensic Sci. Int.*, 124(2-3):192-9, 2001, doi: 10.1016/S0379-0738(01)00608-9.
- [141] T. Zerbini *et al.*, "Estimation of post mortem interval by tomographic images of intracardiac hypostasis", *J. Forensic Leg. Med.*, 38:111–115, 2016, doi: 10.1016/j.jflm.2016.01.001.
- [142] Z. Wu *et al.*, "Estimation of early postmortem interval in rats by GC–MS-based metabolomics", *Leg. Med.*, 31:42–48, 2018, doi: 10.1016/j.legalmed.2017.12.014.